

MODIFIZIERENDE FAKTOREN DER STRAHLENWIRKUNG

AUF DIE KNOCHENHEILUNG IM RATTENFEMUR:

STRAHLENQUALITÄT

INTERVALL ZWISCHEN OPERATION UND BESTRAHLUNG

ERHOLUNG VON SUBLETALEN STRAHLENSCHÄDEN

Paul Stas

Disbui. München

1988



Aus dem Institut für Strahlenbiologie der Gesellschaft für
Strahlen- und Umweltforschung, Neuherberg

Direktor: Prof. Dr. U. Hagen

vorgelegt über: Prof. Dr. K. Tempel
Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. R. Schulz

MODIFIZIERENDE FAKTOREN DER STRAHLENWIRKUNG
AUF DIE KNOCHENHEILUNG IM RATTENFEMUR:
STRAHLENQUALITÄT
INTERVALL ZWISCHEN OPERATION UND BESTRAHLUNG
ERHOLUNG VON SUBLETALEN STRAHLENSCHÄDEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Paul Stas
aus
Mortsel

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der

Universität München

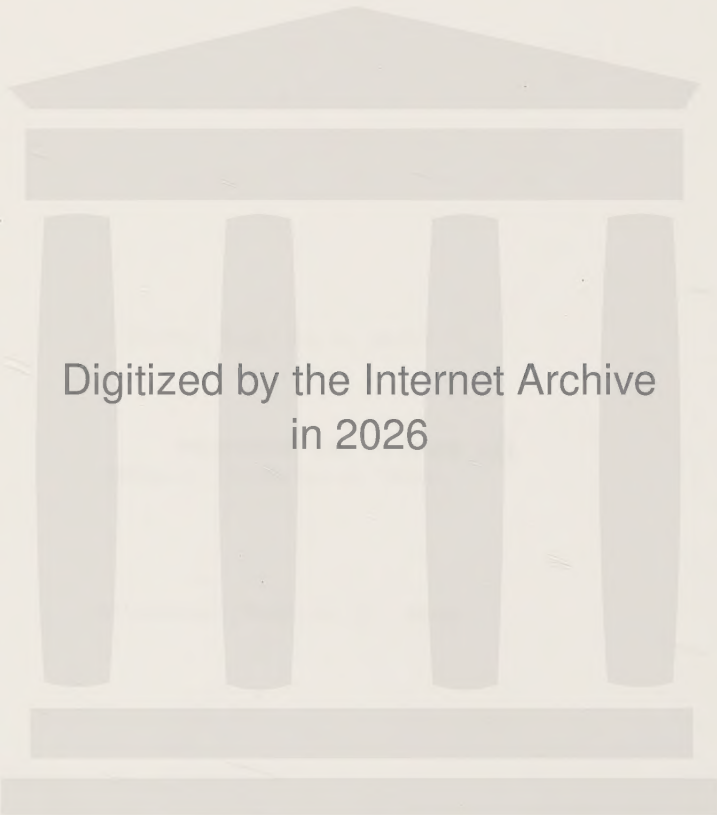
Dekan: Prof. Dr. M. RÜSSE

Referent: Prof. Dr. K. TEMPEL

Korreferent: Prof. Dr. E. DAHME

Tag der Promotion: 26. Februar 1988

für Daniela und Katharina



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554823_0115

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. <u>Einleitung</u>	1
2. <u>Material und Methoden</u>	6
2.1. Versuchstiere	6
2.2. Narkose	6
2.3. Der operative Eingriff: das Setzen des Bohrlochdefektes	7
2.4. Bestrahlung	8
2.4.1. Bestrahlung mit 320 kV Röntgenstrahlen	8
2.4.1.1. Bestrahlungseinrichtung	8
2.4.1.2. Dosimetrie	9
2.4.1.3. Lagerung der Tiere	9
2.4.2. Bestrahlung mit Spaltneutronen	12
2.4.2.1. Bestrahlungseinrichtung am FRM Garching	12
2.4.2.2. Dosimetrie	12
2.4.2.3. Lagerung der Tiere	13
2.4.3. Bestrahlung mit 14 MeV Neutronen	15
2.4.3.1. Bestrahlungseinrichtung am DKFZ-Heidelberg	15
2.4.3.2. Lagerung der Tiere	15
2.4.3.3. Dosimetrie	16
2.4.4. Bestrahlung mit Pi-Mesonen	19
2.4.4.1. Bestrahlungseinrichtung am SIN-Villigen	19
2.4.4.2. Dosimetrie	20
2.4.4.3. Lagerung der Tiere	21
2.5. Auswertung des Strahleneffektes	24
2.5.1. Klinische Befundung	24
2.5.2. Morphologische Auswertung	24
2.5.2.1. Fixierung	24
2.5.2.2. Entkalkung	25
2.5.2.3. Einbettung in Methacrylat	25
2.5.2.4. Anfertigung histologischer Schnitte	26

2.5.2.5.	Färbung histologischer Schnitte	26
2.5.2.6.	Morphometrische Auswertung	28
2.6.	Statistische Analyse der Ergebnisse	28
2.7.	Planung der Experimente	29
2.7.1.	Postoperative Einzeitbestrahlung mit steigendem Intervall nach der Operation	29
2.7.2.	Präoperative Einzeitbestrahlung mit verschiedenen Strahlenarten	30
2.7.3.	Fraktionierte Röntgenbestrahlung mit unvollständiger Erholung	32
3.	Ergebnisse	38
3.1.	Klinische Beobachtungen	38
3.2.	Postoperative Einzeitbestrahlung mit steigendem Intervall nach der Operation	39
3.2.1.	Histometrische Darstellung der Resultate	39
3.2.2.	Quantale Darstellung der Resultate	50
3.3.	Einzeitbestrahlung mit verschiedenen Strahlenarten 24 Stunden vor der Operation	54
3.3.1.	Forschungsreaktor München-Garching	54
3.3.2.	DKFZ-Heidelberg	56
3.3.3.	SIN-Villigen	60
3.3.4.	Quantale Analyse der Ergebnisse	63
3.4.	Fraktionierte Bestrahlung mit unvollständiger Erholung	67
3.4.1.	Histometrische Darstellung der Resultate	67
3.4.2.	Quantale Analyse der Ergebnisse	76
4.	Diskussion	79
4.1.	Methode	79
4.2.	Physiologie der Knochenheilung	84

4.3.	Postoperative Einzeitbestrahlung mit steigendem Intervall nach der Operation	85
4.3.1.	Zusammenfassung der eigenen Resultate	85
4.3.2.	Besprechung der Ergebnisse	86
4.4.	Präoperative Einzeitbestrahlung mit verschiedenen Strahlenarten	91
4.4.1.	Zusammenfassung der eigenen Resultate	91
4.4.2.	Besprechung der Resultate	92
4.5.	Fraktionierte Röntgenbestrahlung mit unvollständiger Erholung	96
4.5.1.	Zusammenfassung der eigenen Resultate	96
4.5.2.	Besprechung der Resultate	97
4.6.	Ausblick	100
5.	<u>Zusammenfassung</u>	102
	<u>Summary</u>	103
6.	<u>Literaturverzeichnis</u>	105

ABKÜRZUNGEN

DKFZ	- Deutsches Institut für Krebsforschung in Heidelberg
ED50	- Effektive Dosis 50%
FRM	- Forschungsreaktor der Technischen Universität München in Garching
Gy	- Gray
kV	- Kilovolt
LET	- linearer Energie Transfer (Maß für die Ionisationsdichte einer Strahlung im Weichteilgewebe)
MeV	- Megaelektronenvolt (Energieeinheit)
RENT I Strahl	- Reactor research neutron therapy, der Strahl besteht aus 75% Neutronenanteil und 25% Gammastrahlen
SAS	- Statistical analysis system
SIN	- Schweizer Institut für Nuklearforschung in Villigen/Aargau

1. Einleitung

Die Anwendung ionisierender Strahlen hat einen festen Platz in der heutigen Tumorthherapie. Vor allem kommen neben den Röntgen und Gammastrahlen auch Korpuskularstrahlen, wie Neutronen, Protonen, Elektronen, Betateilchen und Pi-Mesonen zur Anwendung (Lissner und Hug, 1980).

Das Auftreten klinisch relevanter Strahlenschäden an Normalgeweben ist häufig therapielimitierend. In der Strahlenbiologie werden daher Modelle entwickelt, die den Einfluß verschiedener Strahlenarten auf die Pathogenese, das Fraktionierungsverhalten und die Strahlenresistenz von Tumoren und Normalgeweben widerspiegeln.

Die zellulären Effekte ionisierender Strahlen äußern sich in Störungen der Mitose und der Synthese zelleigener Moleküle und führen zur Inaktivierung proliferationsfähiger Zellen (akuter Strahlenschaden). Die Antwort des Tumors auf einen Strahleninsult ist abhängig von einer Reihe von Faktoren, wobei die eigentliche Strahlenempfindlichkeit der Tumorzelle und ihr Oxygenierungsgrad die wichtigsten darstellen (Barendsen, 1982,a). Bereits in den zwanziger Jahren entdeckte man den Einfluß der Sauerstoffkonzentration (Hall, 1978) auf die Strahlenwirkung, doch erst 1953 quantifizierte Gray (Field und Hornsey, 1979) dieses Phänomen. Er stellte fest, daß -je nach Gewebsart- die Strahlenresistenz gegenüber Röntgenstrahlen bei Hypoxie um einen Faktor 2,0 bis 3 stieg. Ein Tumor weist jedoch aufgrund seines schnellen Wachstums und wegen seiner besonderen Blutversorgung ab einer gewissen Größe stets eine Fraktion hypoxischer Zellen auf. Da die hypoxische Zellpopulation nach einer Bestrahlung den Tumor repopuliert, nahm man an, daß es sich um reoxygenierte Zellen handelte. Thomlinson und Gray konnte diese Hypothese 1955 experimentell belegen. Gleichzeitig beschrieben Elkind und Sutton (1960) die Reparatur subletaler Strahlenschä-

den: durch ein Aufteilen der Dosis in verschiedene Fraktionen konnte die gleicheffektive Gesamtdosis deutlich gesteigert werden. Dies gilt vor allem für Normalgewebszellen, während die Tumorzelle deutlich weniger Strahlenschaden erholen kann. 1975 faßte Withers die wesentlichen Prozesse, die bei fraktionierter Bestrahlung die Gewebsempfindlichkeit modifizieren, in den sogenannten "4 R's" zusammen. Neben der Reparatur von subletalen Strahlenschäden und der Reoxygenierung hypoxischer Zellen spielen vor allem die Redistribution der Zellen in den verschiedenen Zyklusphasen und die Regeneration überlebender Zellen eine Hauptrolle.

In den fünfziger Jahren begann dann die Suche nach geeigneten Methoden, das Problem hypoxischer Tumorzellen zu umgehen. Hyperoxygenierung (höhere Sauerstoffkonzentration in der Umgebungsluft) sollte die Sauerstoffkonzentration im Tumorgewebe erhöhen. Conger zeigte 1953, daß der Gebrauch von schnellen Neutronen den Sauerstoffeffekt größtenteils aufhebt (zitiert in Gray et al., 1953). Diese Feststellung leitete zu dem Schluß, daß Neutronen und andere Strahlenarten mit hohem linearen Energietransfer ("high-LET") bei hypoxischen Tumoren einen therapeutischen Vorteil bringen können. Ein Vorteil der Neutronen gegenüber geladenen Teilchen liegt in ihrer hohen Eindringtiefe in der Materie, was die Bestrahlung tieferliegender Tumoren ermöglicht. Bereits die frühesten strahlenbiologischen Untersuchungen zeigten, daß die relative biologische Wirksamkeit (RBW) der Neutronen unterschiedlich war für verschiedene Zielgewebe (Field und Hornsey, 1979). Broerse et al. (1971) erklärten diese Unterschiede hauptsächlich mit der unterschiedlichen Kapazität der Gewebe, subletale Strahlenschäden zu erholen. Da aber Normalgewebszellen diese Schäden besser erholen als Tumorzellen, spricht dies eher gegen einen therapeutischen Einsatz von Neutronen. Die ersten radiotherapeutischen Versuche mit Neutronen (Berkeley, Kalifornien, 1938) führten zu extremen Normalgewebsschäden (Stone, 1948), sodaß erst 1967 am Hammer-smith Hospital in London erneut Neutronen in der Patientenbe-

strahlung zum Einsatz kamen (Field und Hornsey, 1979). Vor allem bei der Bestrahlung von schlecht reoxigenierbaren Tumoren verspricht man sich durch die Anwendung von Neutronen einen therapeutischen Vorteil. Zur Zeit arbeiten in Europa etwa 10 Neutronenquellen, die für medizinische Zwecke eingesetzt werden (Barendsen, 1982,a).

Schon bald nach der Entdeckung der Pi-Mesonen (1947) kamen Fowler und Perkins (1961) zu der Überzeugung, daß der negative Pionenstrahl aufgrund seiner besonderen physikalischen Eigenschaften für die Tumorthherapie besonders geeignet sei (zitiert in Yuhas et al., 1979). Im menschlichen Körper besitzen die negativ geladenen Teilchen, deren Masse 273 mal größer ist als die von Elektronen und 7 mal kleiner als von Protonen oder Neutronen, eine Reichweite, die abhängig ist von ihrer Anfangsenergie. Maximal können sie bis zu 20 cm in das Gewebe eindringen. Wenn die Teilchen am Ende ihres Weges im Gewebe zur Ruhe kommen, werden sie von den Sauerstoff-, Kohlenstoff-, Wasserstoff- oder Stickstoffkernen eingefangen und treten ihre volle kinetische Energie an den Kern ab. Der Kern wird zerstört und die stark beschleunigten Fragmente fliegen in alle Richtungen. Man verspricht sich von dieser "Star-Bildung" eine umschriebene Bestrahlung des Tumorgewebes unter größtmöglicher Schonung des umliegenden Normalgewebes und der hohe LET-Wert im "Peak-Bereich" soll zu einer stärkeren Schädigung hypoxischer Tumorzellen führen. Das Fehlen geeigneter Generatoren verzögerte den medizinischen Einsatz der Pionen sehr. Zur Zeit wird der Strahl in Vancouver (Kanada) und am SIN (Schweiz) produziert (von Essen, 1978), in Los Alamos und in Stanford (USA) wurde der Betrieb bereits wieder eingestellt.

Bei einer fraktionierten Bestrahlung kommt es zwischen den Behandlungen zu einer teilweisen Erholung des gesetzten Schadens durch das Gewebe. Dabei wird der subletale Strahlenschaden als der Anteil an der applizierten Dosis definiert, der innerhalb von wenigen Stunden erholt werden kann (Hall, 1978). Das Stu-



dium der Erholungskinetik subletaler Strahlenschäden ist in der Tumorthherapie vor allem bei fraktionierter Bestrahlung mit kurzen Erholungszeiten zwischen den Fraktionen (z.B. Hyperfraktionierung) von Interesse. Durch ein Verkürzen der Intervalle kann nur noch ein Teil des gesetzten Strahlenschadens vom Gewebe erholt werden. Wenn das umliegende Normalgewebe den subletalen Strahlenschaden schneller erholt als der Tumor, dann sind fraktionierte Behandlungen mit kurzen Erholungszeiten vorteilhaft für die Therapie.

Die Strahlenempfindlichkeit des Knochengewebes kann in der Strahlentherapie zum limitierenden Faktor werden. Zahlreiche Untersuchungen beschäftigten sich bisher mit den Effekten von Strahlung auf das Knochengewebe. Strahlenbedingte Knochenschäden können beim Erwachsenen von der leichten Osteoporose mit Knochenumbau über die Osteoradionekrose bis hin zu schwersten Veränderungen und sogar zum Tode führen. Das Entstehen strahleninduzierter Knochentumoren wird ebenfalls beobachtet. Bei der Entstehung von Osteoradionekrosen spielen neben der Strahlendosis vor allem die mechanische Belastung und die durch Zusatzinfektionen hervorgerufene Osteomyelitis eine Rolle. Das wesentliche Symptom dieser Nekrose stellen die häufig auftretenden Spontanfrakturen dar (Kolar und Vrabec, 1984, Gössner et al., 1984; Kummermehr, 1971), die schon einige Monate nach der Bestrahlung beobachtet werden können. Neben den Rippenfrakturen und den Schenkelhalsfrakturen ist besonders der Unterkiefer anfällig für derartige Veränderungen (Kolar und Vrabec, 1984). Die Frage nach einer Störung der Frakturheilung ist dabei von großem klinischen Interesse. Daher wurden verschiedene Versuchsmodelle entwickelt.

Hayashi und Suit (1971) haben bei ihren Versuchen den Effekt der Strahlung auf die Kallusbildung bei Mäusen untersucht. Zunächst wurden die Oberschenkel der Tiere lokal bestrahlt (Cäsium 137), anschließend frakturiert und dann die Kallusbildung gemessen. Infolge der Bestrahlung konnte eine dosisabhän-

gige Unterdrückung der Kallusbildung beobachtet werden. Albrektsson et al. (1980) und Jacobsson et al. (1985) entwickelten eine Knochenkammer und implantierten sie in die Röhrenknochen von Kaninchen. Somit konnte die Knochenheilung mittels eines intravitalen Mikroskopes in vivo qualitativ erfaßt und nach der Entnahme der Knochenkammer unter Narkose quantitativ und histologisch ausgewertet werden.

Die von Schlegel entwickelte Methode des standardisierten Bohrlochdefektes (zitiert in Kummermehr et al. 1982,a) diente ebenfalls der Untersuchung der Knochenheilung nach Strahleninsult. Dazu wurden in die Oberarmknochen von adulten Hunden zylindrische Bohrlochdefekte von 5 mm Durchmesser gesetzt, eine Woche später bestrahlt und anschließend histologisch aufgearbeitet. Arnold et al. (1983) etablierten das Testsystem am Rattenfemur und studierte eingehend den Einfluß der Bestrahlung auf die knöcherne Heilung. Bei ihren Experimenten setzten sie das chirurgische Trauma 24 Stunden nach der Bestrahlung und werteten die Ergebnisse 6-7 Wochen später aus. Dabei konnte eine dosisabhängige Unterdrückung der Knochenheilung beobachtet werden. Diese Dosis-Effekt-Beziehung wurde anschließend für eine Reihe von Intervallen (1 Tag bis 6 Monate) zwischen Einzeitbestrahlung und Operation sowie zwischen Operation und Auswertung (3-30 Wochen) erstellt und die Wirkung einer fraktionierten Bestrahlung auf das System untersucht.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Strahlenempfindlichkeit der knöchernen Heilung in Abhängigkeit von einem steigenden Intervall zwischen Operation und Bestrahlung, von verschiedenen Strahlenarten mit mittlerem und hohem LET, und von Fraktionierungseffekten mit Röntgenstrahlen bei kurzen und sehr kurzen Intervallen zu untersuchen.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

Die Versuchstiere waren weibliche Wistarratten aus der Versuchstierhaltung der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung in Neuherberg im Alter von 4 Monaten und einem Gewicht von 200-250 Gramm. Die Tiere wurden zu dritt in 59.36 cm² großen Makrolonkäfigen gehalten (0.045 m³ /Tier) und mit pelletiertem Trockenfutter (Altromin®) und Wasser ad libitum ernährt.

2.2. Narkose

Zwei verschiedene Narkosen kamen zur Anwendung. Die ersten 75 Tiere wurden zunächst mit Äther in ein Rauschstadium versetzt und intraperitoneal mit 0,6-0,7 ml eines Ketamin-Diazepam-Gemischs (3 ml Ketanest® (50 mg/ml), 4ml Diazepam (5 mg/ml) und 3 ml physiologische Kochsalzlösung) narkotisiert. Nach einer Anflutungszeit von 3-5 Minuten bestand während 10 Minuten eine Narkosetiefe, die einen chirurgischen Eingriff erlaubte (Zwischenzehenreflex verschwunden). Im anschließenden Stadium reagierten die Tiere sehr geräuschempfindlich und wachten dann langsam auf, nach 50-70 Minuten konnten sie wieder laufen.

Um fraktionierte Bestrahlungen mit kurzen Intervallen (1 Stunde zwischen 2 Fraktionen) und Einzeitbestrahlungen mit kleiner Dosisrate (bis zu 3 Stunden Bestrahlungszeit) zu ermöglichen, wurde eine Inhalationsnarkose verwendet. Als Narkotikum gebrauchte man ENFLURAN® im Verdampfer, dem technischer Sauerstoff mit einem Fluß von 0,8-1,0 l/min zugeleitet wurde, wobei

der Flußmesser auch aus größerer Distanz noch ablesbar war. Dies war besonders bei den Bestrahlungseinrichtungen von Vorteil, wo die Bestrahlung nur über Monitor verfolgt werden konnte. Vom Verdampfer aus verteilte sich ein offenes Schlauchsystem, das über Masken die gleichzeitige Narkose von zwei bzw. vier Tieren erlaubte. Die Anfangskonzentration des Inhalationsanästhetikums lag bei 4 Vol.-%. Sie wurde alle 30 Sekunden um 0,5 Vol.-% auf Werte von 2,5-2,0 Vol.-% für operative Eingriffe bzw. auf 1,5 Vol.-% für Bestrahlungszwecke gesenkt. Die Vorteile dieser Narkose lagen in ihrer schnellen An- und Abflutungszeit, der guten Steuerbarkeit und der Muskelrelaxation der Tiere. Selbst nach dreistündiger Narkose oder nach mehrmaliger Anästhesie in kürzester Zeit traten keine Komplikationen auf.

2.3. Der operative Eingriff: das Setzen des Bohrlochdefektes

Das narkotisierte Tier war beim operativen Eingriff in Seitenlage fixiert. Man entfernte mit einem elektrischen Rasierapparat die Haare der beiden hinteren Extremitäten und deckte das Operationsfeld mit einem fenestrierten Tuch ab. Anschließend wurde das Operationsfeld desinfiziert und ein 1,5 cm langer Schnitt in die Mitte zwischen tuberositas ischiadica und Patella gesetzt. Mit einem Scherenschlag wurde der musculus biceps femoralis vom musculus vastus lateralis getrennt und dann vom Femur gelöst. In den so freigelegten Knochen brachte man lateral in Diaphysenmitte an der Ansatzstelle der facies aspera senkrecht zur Knochenfläche unter kontinuierlicher Kühlung mit Kochsalzlösung mittels Spiralbohrer ein Bohrloch von 1,2 mm Durchmesser bis in den Markraum ein. Anschließend wurde mit physiologischer Kochsalzlösung nachgespült, um Späne aus dem Bohrloch zu entfernen. Die Vereinigung der Wundränder des Mus-

kelgewebes geschah mit einer einfachen fortlaufenden Naht, die der Unterhaut mit einer fortlaufenden Matratzennaht jeweils mit CATGUT 4.0. Die Hautwunde wurde mit chirurgischer Seide 3.0 mit drei U-Häften, deren Knoten kaudal der Wunde zu liegen kamen, genäht. Bereits einige Minuten nach dem Abfluten der Narkose konnten die Tiere ihre Hinterextremitäten wieder voll belasten.

2.4. Bestrahlung

2.4.1. Bestrahlung mit 320 kV Röntgenstrahlen

2.4.1.1. Bestrahlungseinrichtung

Die lokale Röntgenbestrahlung der Tiere erfolgte an einer Iso-volt 420D-Röntgenröhre der Firma Seifert bei einer Röhrenspannung von 320 kV und einem Röhrenstrom von 13 mA. Der durch 0,9 mm Kupfer und 1,0 mm Aluminium gefilterte Strahl besaß eine Dosisleistung von 4,5 Gy pro Minute bei einem Fokusabstand von 32,5 cm. Durch einen Kollimationstubus wurde das Strahlenfeld auf einen Durchmesser von 3 cm reduziert.

2.4.1.2. Dosimetrie

Als Strahlendosimeter dienten eine Ionisationskammer der Firma PTW, Freiburg, die während der Bestrahlung im Strahlengang lag, und ein Simplex Universal Anzeigegerät, das vor jeder Bestrahlung mit einem Strontiumprüfnormal kalibriert wurde. Der geometrische Proportionalitätsfaktor für den Abstand zwischen Ionisationskammer und Knochen betrug 1,9. Die damit ermittelte no-

minelle Knochendosis entspricht einer Weichteil-Äquivalentdosis. Bestrahlungsdauer und Dosis wurden jedesmal notiert.

2.4.1.3. Lagerung der Tiere

Die Strahlendosis wurde prinzipiell lokal appliziert, d.h. sie umfaßte einen maximal 3 cm langen Abschnitt des Femurs mit möglichst zentralem Einschluß des Beines. Dadurch konnte die Ganzkörperdosis niedrig gehalten werden. Vor allem die lokale Dosis der kritischen umliegenden Gewebe (Beckenorgane, Bauchhöhlenorgane, Rückenmark) mußte so gering wie möglich gehalten werden, insbesondere vorfallende Darmschlingen waren aus dem Strahlenfeld zu entfernen. Für die verschiedenen Strahlenarten kamen Probleme der Positionierung hinzu, welche die Entwicklung spezieller Haltevorrichtungen erforderten. Abbildung 2.4.1.1. zeigt eine Ratte in Bauchlage unter Ketamin-Narkose 10 min nach oraler Gabe eines Kontrastbreis (0,7 ml Mikropaque®). Deutlich erkennbar liegen einige durch Kontrastbrei hervorgehobene Dünndarmschlingen unter dem rechten Oberschenkelknochen.

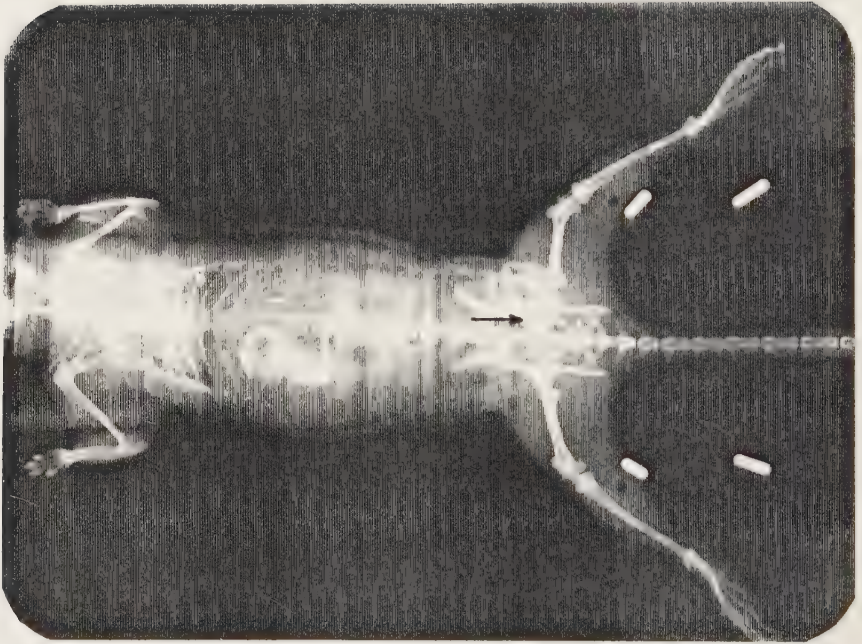


Abb. 2.4.1.1.: Röntgenaufnahme einer Ratte in Bauchlage (70 kV, 4 mA, 36 cm Fokusabstand, 3,5 sec Belichtungszeit) 10 min nach oraler Gabe von 0,7 ml Bariumsulfat. Der Magen und einige Dünndarmschlingen (Pfeil) sind durch den Kontrastbrei deutlich hervorgehoben.

Eine von Arnold (1984) entwickelte Halterung diente der reproduzierbaren Fixierung der Tiere unter gleichbleibenden geometrischen Bedingungen. Die in Bauchlage mit abgespreizten Extremitäten und angewinkelten Knien befindlichen Tiere waren an Beinen und Schwanz mit Tesafilm befestigt. Metallstifte hinter

den Kniekehlen verhinderten ein Ausweichen und garantierten die Positionierung der Femora im rechten Winkel zur Längsachse des Beckens. Eine Plexiglasbrücke mit kreisförmigen Aussparungen über den Zentren der zu bestrahlenden Knochen erlaubte ein exaktes Ausrichten des Strahlentubus (Abb. 2.4.1.2.). Sowohl eine manuelle als auch eine röntgenologische (Polaroidfilm) Kontrolle der Lagerung wurden vor und nach jeder Bestrahlung vorgenommen.

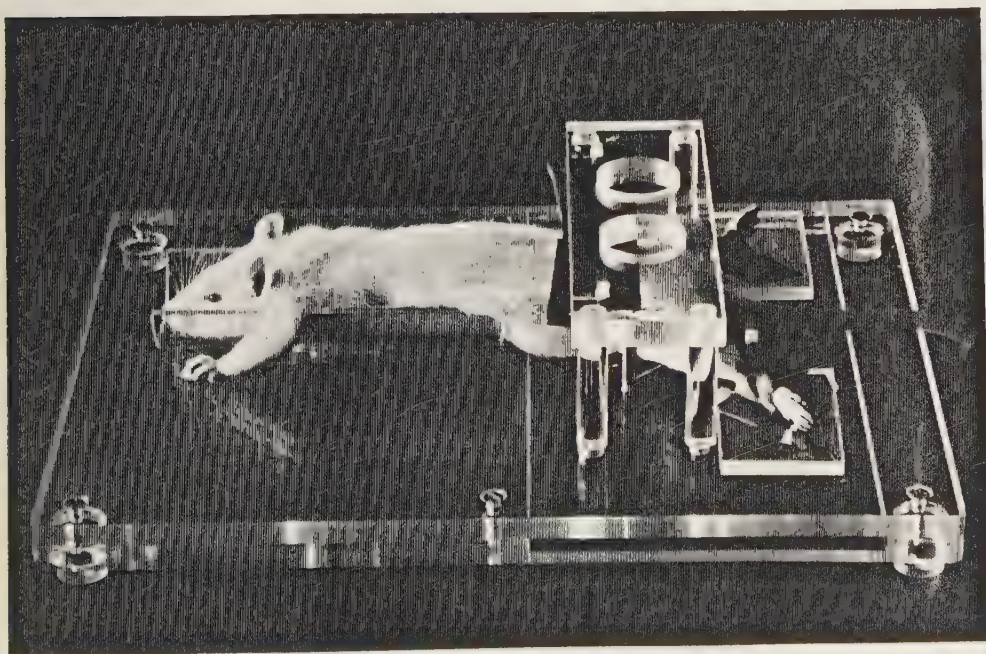


Abb. 2.4.1.2.: Positionierung der Tiere für die 320 kV Röntgenbestrahlung. Die Ratte befindet sich in Bauchlage mit abgespreizten Hinterextremitäten. Die Plexiglasbrücke mit den kreisförmigen Aussparungen über den Femora der Tiere dient der exakten Ausrichtung des Strahlentubus.

2.4.2. Bestrahlung mit Spaltneutronen

2.4.2.1. Bestrahlungseinrichtung am Forschungsreaktor München-Garching

Am Forschungsreaktor der TU-München in Garching werden seit 1980 Spaltneutronen produziert. Die Strahlenquelle ist eine zu 90% mit ^{235}U angereicherte Uranium-Konvertor-Platte, bei der einfallende langsame Neutronen über eine Kernspaltung das Freisetzen von schnellen Neutronen und Photonen bewirken. Das Energiespektrum des so entstandenen Neutronenstrahls liegt zwischen 0,5 und 7 MeV mit einer mittleren Energiehäufigkeit von 1,8 MeV. Die ebenfalls entstehende Gamma-Strahlung hat eine mittlere Energie von 2,5 MeV. Die Dosisleistung des durch 2,5 cm Blei gefilterten Strahls, der als RENT I bezeichnet wird (Reactor Research Neutron Therapy), beträgt in 2 cm Gewebstiefe (gemessen im Wasserphantom) 21,2 cGy/min für Neutronen und 7,3 cGy/min für den Gammaanteil (25%). Die Austrittsstelle des horizontal ausgerichteten Strahls liegt 545 cm von der Konvertorplatte entfernt in 70 cm Höhe (Koester et al., 1983, Koester, 1984, Wagner).

2.4.2.2. Dosimetrie

Zwei unabhängige Ionisationskammern (PTW, Freiburg), die sich zwischen Filter und Kollimator befanden, überwachten den Strahl. Eine der beiden Kammern war mit einer neutronenempfindlichen 1,5 mm Al₅₀ Eintrittselektrode ausgestattet, die andere war photonenempfindlich. Als zusätzlicher Monitor kam ein Fingerhutdosimeter, das am Rand des Strahls zwischen der Reaktorwand und den Filtern lag, zum Einsatz. Routinemäßige Messungen mit einer kalibrierten Ionisationskammer, die sich in einem

Phantom aus Polyethylen befand, kontrollierten die Stabilität der Messungen. Die Überwachung der Dosimetrie während der Bestrahlung unter Berücksichtigung der Temperatur- und Luftdruckwerte leitete Herr F.M. Wagner (Forschungsreaktor München).

2.4.2.3. Lagerung der Tiere

Der Kollimator am Forschungsreaktor München ist horizontal ausgerichtet und besitzt eine Öffnung von 4·8 cm. Das erforderte eine senkrechte Positionierung der Tiere. Zwei narkotisierte Tiere wurden in Kopfhängelage nebeneinander an Schwanz und Beinen fixiert. Somit konnten die Dünndarmschlingen nach kranial aus dem Bestrahlungsfeld entweichen. Die Tiere lagen mit dem Rumpf in einer Plexiglasmulde und soweit auseinander, daß jeweils das bereits markierte Bein in ein auf die Platte eingezeichnetes Feld (4·8 cm) zu liegen kam. Bauch, Becken und die andere Hinterextremität lagen außerhalb des Feldes. Nach der ersten Bestrahlung wurden die Tiere umgehängt und anschließend die beiden anderen Femora bestrahlt. Die Abb. 2.4.2.1. zeigt eine Röntgenaufnahme zweier derart positionierter Tiere. Die Kontrolle der Positionierung geschah durch Palpation, visuell und während der Bestrahlung über einen Monitor. Der Strahl traf zunächst die Außenfläche des Oberschenkels, durchquerte den Oberschenkel in latero-ventraler Richtung und passierte dann die Plexiglasplatte.

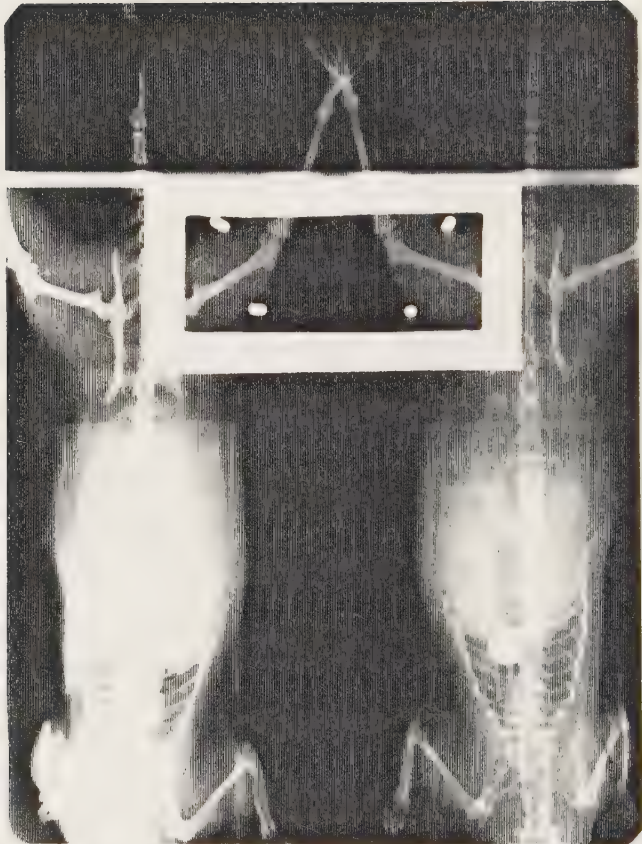


Abb. 2.4.2.1.: Röntgenaufnahme zweier Tiere in Kopfhängelage mit angewinkelten Extremitäten und gebeugten Knien. Ein rechteckiger Bleirahmen beschreibt die für den Neutronenstrahl vorgesehene Feldgröße. Die vier Metallstifte, die als Orientierungshilfe für die Fixierung der Beine dienen, sind als Punkte erkennbar.

2.4.3. Bestrahlung mit 14 MeV-Neutronen

2.4.3.1. Bestrahlungseinrichtungen am DKFZ-Heidelberg

Der eigens für medizinische Strahlentherapie entwickelte Neutronengenerator KARIN am Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg beschleunigt Deuteronen (${}^2_1\text{H}$) mit einer Energie von 300 keV direkt auf ein mit Tritium (${}^3_1\text{H}$) beschichtetes Target. Das Bombardement führt zu folgender Kernreaktion:



Die hier freiwerdenden Neutronen haben ein nahezu monoenergetisches Spektrum mit einem Mittelwert von 14 MeV. Das Tritium wird nach und nach in Helium umgewandelt, sodaß nach 200-300 Betriebsstunden ein Austausch der kostspieligen Zielplatten nötig ist. Der Strahl, der sowohl horizontal als auch vertikal gerichtet werden kann, hat einen Gammaanteil von weniger als 2% bei einer Dosisleistung von 10-13 cGy/min.

2.4.3.2. Lagerung der Tiere

Unter dem vertikal gerichteten Neutronenstrahl der Deuterium-Tritium-Röhre wurden zwei Tiere in Rückenlage auf eine schräg ausgerichtete und durch Scharniere geteilte Plexiglasplatte fixiert. Diese leichte Schräglage (ca. 10°) begünstigte eine Verlagerung von Dünndarmschlingen nach kranial, was vor jeder Bestrahlung durch manuelles Abstreifen zusätzlich unterstützt wurde. Bei den mit den Hinterenden einander gegenüber liegenden Tieren überkreuzten sich die Hinterextremitäten im Bereich der Tarsalgelenke. Der Rumpf jeder Ratte befand sich in einer Plexiglasmulde, die angewinkelten Kniee lagen Metallstiften an,

die 20 mm von der vorderen und 5 mm von der seitlichen Begrenzung des Strahlenfeldes angeordnet waren. Der Schwanz des ersten Tieres wurde unter das zweite Tier gelegt, der des zweiten Tieres über Becken und Bauch des ersten. Im Kollimator befand sich in Längsrichtung der Tiere ein gleichschenkliges Wolframprofil mit dreieckigem Querschnitt, dessen 16 cm lange Schenkel in den Kollimator hineinragten und dessen Basis 1 cm breit und 8 cm lang war. Dadurch entstand ein Strahlenschatten in der Mitte des Feldes, der die Dosis im Bereich der Beckenorgane und des Rückens um 90 % reduzierte. Durch eine im Fokusbereich eingebaute Lichtquelle, die das Strahlenfeld vor jeder Bestrahlung ausleuchtete, war die Position der Tiere visuell kontrollierbar und leicht reproduzierbar. Die bis zu drei Stunden dauernde Bestrahlung wurde über Monitor beobachtet.

2.4.3.3. Dosimetrie

Die von Herrn Höver (DKFZ) durchgeführten Messungen der Tiefendosisverteilung und des Dosisprofils wurden mit zylindrischen gewebsäquivalenten Ionisationskammern verschiedenster Größe durchgeführt. Abb. 2.4.3.1. zeigt das speziell für die Knochenbestrahlung der Ratte angefertigte Dosisprofil. Hierbei wird die relative Dosis (0-1) gegen den Abstand vom Spot-Zentrum (100 mm) in der X-Achse (Querachse der Tiere) aufgetragen. Das M-förmige Profil der Kurve erklärt sich durch den in den Kollimator eingeschobenen Wolframkeil. Dadurch wird in der Mitte des Strahls die einfallende Dosis um 80 % gesenkt und dort liegendes Gewebe (Blase, Enddarm) vor dem Strahleninsult geschützt.

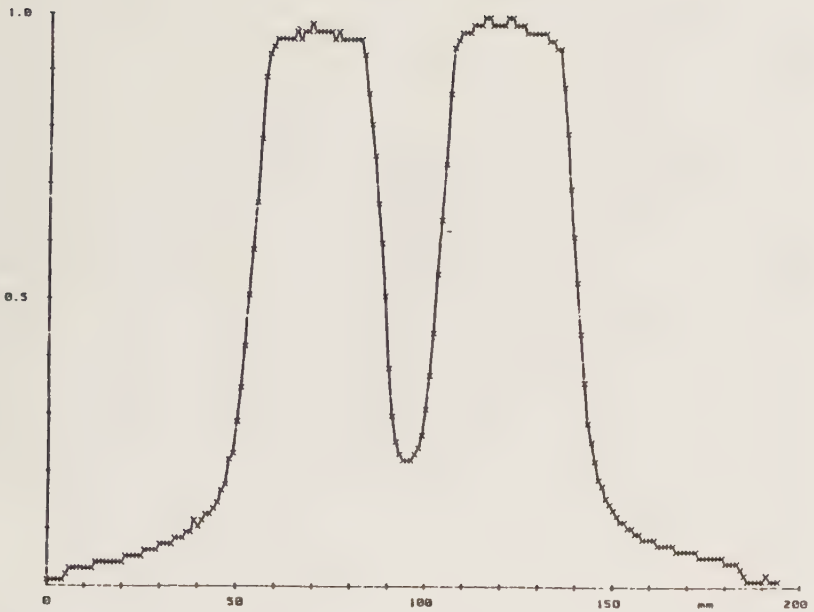


Abb. 2.4.3.1.: Dosisverteilung in der X-Achse der Bestrahlung mit 14 MeV Neutronen. Der Dosisabfall in der Mitte des Strahlenfeldes ist durch das Einschieben eines Wolframkeils in den Kollimator bedingt.

Wie bereits bei den Bestrahlungen mit anderen Quellen, wurde auch hier die Knochendosis der Weichteilgewebsdosis gleichgesetzt. Dies ist jedoch eine Vereinfachung, denn betrachtet man die Kerma (= die Energie, die pro Volumeneinheit in Materie

freigesetzt wird) der verschiedenen Organe, so muß man die effektive Dosis im Gewebe der chemischen Zusammensetzung des Gewebes anpassen. Für den Knochen bedeutet dies, daß einige Millimeter nach Eintritt in das Knochengewebe die absorbierte Energie um den Faktor 0,6 korrigiert werden muß (Höver et al., 1981). Da aber die durchstrahlte Kortikalis nur 0,4-0,5 mm stark ist, gilt dieser Umrechnungsfaktor nur für einen kleinen Teil des durchstrahlten Knochens. Beim Eintritt des Neutronenstrahls in das Knochengewebe findet jedoch ein gegenläufiger Prozeß statt. Durch den Übergang in ein dichteres Gewebe baut sich der Strahl neu auf. Die abgegebene Energie ist zunächst höher als im Weichteilgewebe und der Korrekturfaktor für die ersten 1-2 mm im Knochen dürfte bei 1,3-1,4 liegen (Höver, mündliche Mitteilung). Da mikrodosimetrische Messungen für das vorliegende Modell jedoch nicht möglich waren, ging man von einem mittleren Korrekturfaktor von 1,0 aus.

2.4.4. Bestrahlung mit Pi-Mesonen

2.4.4.1. Bestrahlungseinrichtungen am SIN-Villigen (CH)

Negative Pi-Mesonen sind geladene Teilchen mit der gleichen Ladung wie Elektronen, ihre Masse ist jedoch 273 mal größer. Der am schweizerischen Institut für Nuklearforschung (SIN) produzierte Strahl für medizinische Zwecke entsteht beim Aufprall beschleunigter Protonen auf eine Zielplatte. Die hierbei zerteilten Atome setzen negative Pi-Mesonen mit unterschiedlicher kinetischer Energie in alle Richtungen frei. Diese werden nun gebündelt und in 60 kreisförmig angeordnete und konzentrisch ausgerichtete Strahlen aufgeteilt. Die Reichweite eines solchen Strahls im Wasserphantom ist abhängig von der kinetischen Energie der Partikel und beträgt für 54 MeV Pi^- 10 cm, für 82 MeV Pi^- 20 cm. Am Ende ihres Weges werden die negativ geladenen

Teilchen von den positiv geladenen Zellkernen der durchstrahlten Materie angezogen und setzen Röntgenstrahlen beim Überwinden der Elektronenhüllen frei. Im Zellkern kommt es zu einer Explosion, die Kernfragmente (Neutronen, Protonen, Alpha-Teilchen und noch schwerere Fragmente) fliegen mit Energien von 30-70 MeV in alle Richtungen. Diese sogenannten "Pionen-Stars" verursachen den enormen lokalen Dosisanstieg, der sich je nach Anzahl der eingesetzten Strahlen und proportional zur Anfangsenergie der beschleunigten Protonen manifestieren kann. Eine genaue Dosimetrie ist bei diesem Strahl nur möglich, wenn sich der Strahl in homogenem Gewebe aufbauen kann, eine 3 mm dicke Luftblase im gewebsäquivalenten Gewebe genügt um das Entstehen der Pi-Meson-Peaks aus dem zentralen Bereich zu verschieben (von Essen, 1978; Yuhas et al., 1979).

2.4.4.2. Dosimetrie

Die Dosimetrie am SIN basiert auf der von Herrn Salzmann (1979, 1981) erstellten physikalischen dreidimensionalen Dosisverteilung eines einzelnen Pionenstrahls (Abb. 2.4.4.1.) (Medical Newsletter 2, S.7).

Der für die biologisch relevante Dosis wichtige, im "Star-bereich" entstehende "high-LET"-Anteil wurde mit Thermolumineszenzdosimetern und über die Aktivierung 0,1 mm dicker Aluminiumfolien separat gemessen. Ein Geiger-Müller-Zähler registrierte die Zerfallselektronen des ^{24}Na , das beim Einfang von Pi^- entstand. Die direkte Messung der Pionenzahl mit einem Szintillationsmesser bestätigte, daß die Aktivierungsmethode ein zuverlässiger Parameter für die "high-LET"-Dosisverteilung ist. Zwei unabhängige Systeme überwachten während der Bestrah-

lung die Dosimetrie: zum einen 4 Szintillationszähler, zum anderen 60 Ionisationskammern, die jeden Pionenstrahl beim Eintritt im Behandlungszyylinder einzeln kontrollierten. Die physikalische Überwachung während der Experimentdurchführung leitete Herr Blattmann.

Fig. 3

Depth dose $T(w)$ for three different momenta and the same momentum spread.

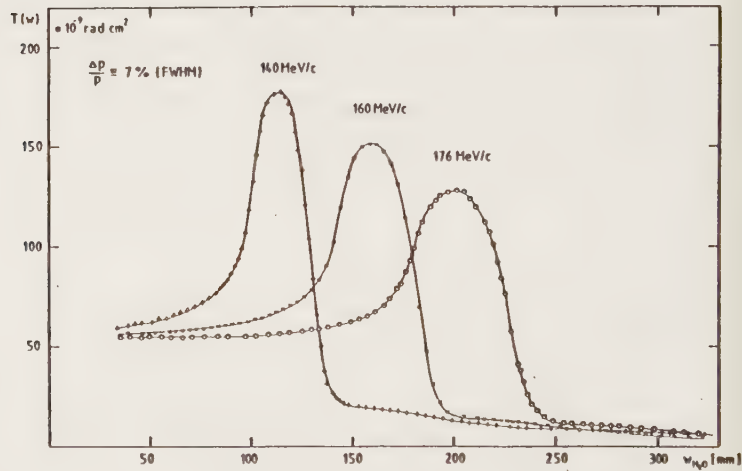


Abb. 2.4.4.1. zeigt die Dosisverteilung eines einzelnen Pionenstrahls im Wasserphantom für drei verschiedene Anfangsenergien (140 MeV, 160 MeV, 176 MeV) der Protonen. Zwar läßt sich mit steigender Beschleunigung der Partikel die Eindringtiefe im Gewebe erhöhen, doch der therapeutisch interessante "Peak-Bereich" verflacht zusehends.

2.4.4.3. Lagerung der Tiere

Die speziellen physikalischen und technischen Bedingungen der aus 60 zirkulär angeordneten und konzentrisch ausgerichteten Pi-Mesonen-Strahlen bestehenden Bestrahlungseinrichtung am SIN erforderte eine komplizierte Positionierung der Tiere. Eine der Grundbedingungen für die Bestrahlung war, daß die Mitte des Femurschaftes der Tiere im Zentrum des Pionenpeaks (2 cm Durchmesser) zu liegen kam. Die für die Anfertigung der Halterung verwendeten Materialien besaßen weichteilgewebsäquivalente Dichte. Eine 2 mm dicke Plexiglaswand unterteilte einen 16·16·16 cm großen Polyurethanblock in der Mitte (parallel zur Z-Achse, senkrecht zur X-Achse). Die Bodenfläche stieg von vorne nach hinten kontinuierlich an, war an der Hinterwand 8 cm dick und so geformt, daß sie den Tieren in Rückenlage eine angepaßte Auflage bot. Darüber war die Rückwand fenestriert. Ein 5 mm kurzer Plexiglasstift, der als Anhaltspunkt für die Fixierung der Beine diente, befand sich 1 cm vor und 1 cm oberhalb des auf die Plexiglastrennwand eingezeichneten Zentrums des Blocks. In jeder Hälfte des Behälters lag ein Tier in Rückenlage mit dem Kopf nach unten, sodaß er vorne aus dem Block herausragte. Das zu bestrahlende Bein war der Plexiglaswand dicht angelehnt und mit Tesastreifen fixiert, dabei kam das gestreckte Knie direkt hinter den Plexiglasstift zu liegen. Ein mit Ultraschallgel gefüllter Plastikbeutel, dem Tier eng anliegend, diente dem Schutz der Haut vor mechanischen Verletzungen und sollte das Entstehen von luftgefüllten Räumen verhindern. Zwei geschnittzte Moulagen aus Polyurethan sorgten für einen spaltfreien Verschluß des gesamten Blockes und die letzten freien Räume wurden mittels einer Spritze mit Ultraschallgel aufgefüllt. Ein Dekkel, der Aussparungen für den Tierkörper besaß, verschloß nach vorne den Behälter. Kontrollaufnahmen mit Polaroidfilmen zeigten, daß die

Diaphysenmitte der zu bestrahlenden Femora nie mehr als 8 mm außerhalb des geometrischen Zentrums der Halterung, also immer im Bereich der 90%-Isodose lag, die sich 1 cm vom Zentrum befand. Diese reproduzierbare Positionierung der Tiere erlaubte die gleichzeitige Bestrahlung zweier Femora bei Schonung der empfindlichen Organe. Pro Ratte konnte allerdings nur ein Bein bestrahlt werden; die Dosis des anderen Beines lag bei ca 15 % der Maximaldosis. Das bestrahlte Bein wurde mit einem Filzstift markiert. Die Abbildungen 2.4.4.2. und 2.4.4.3. zeigen jeweils eine Ratte, deren linkes Bein zur Bestrahlung positioniert wurde vor und nach dem Anlegen der Moulagen.

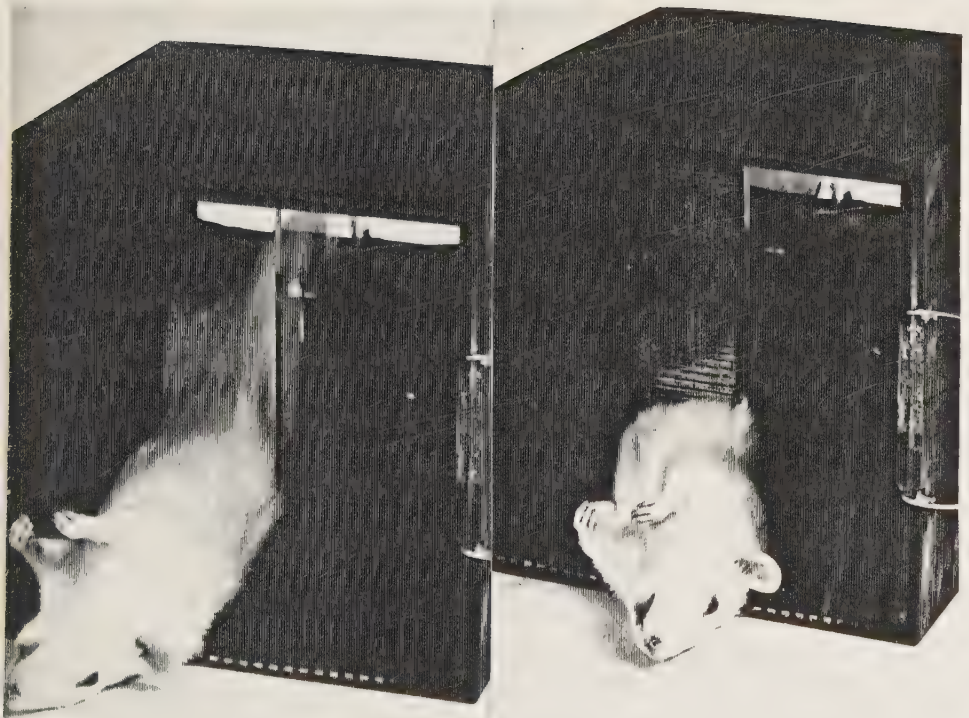


Abb. 2.4.4.2.: Positionierung einer Ratte in der zur Bestrahlung mit Pi-Mesonen vorgesehenen Halterung. Das linke Bein ist derart fixiert, daß die Diaphysenmitte des Femurs im Zentrum des Blockes (Y- und Z-Achse; 0,4-0,6 cm vom Zentrum der X-Achse) liegt. Bauch- und Beckenhöhlenorgane verlagern sich bei dieser Lagerung nach kranial.

Abb. 2.4.4.3.: Zur Vermeidung von Leerräumen, die den Aufbau des Strahls beeinflussen, werden den Tieren geschnittene Moulagen angelegt.

2.5. Auswertung des Strahleneffektes

2.5.1. Klinische Befundung

7 Wochen nach der Operation wurden die Tiere mit Äther getötet, die Knochen entnommen und die Muskulatur entfernt. Zur pathologischen Untersuchung gehörten neben der Allgemeinuntersuchung eine genaue Beschreibung der Hautveränderungen und die makroskopische Beurteilung der Knochenheilung. Für jedes Tier wurde ein eigenes Protokoll angefertigt, das neben den pathologischen Ergebnissen auch die klinischen Daten zur Bestrahlung und zur Operation sowie den histologischen Befund und die morphometrische Auswertung enthielt.

2.5.2. Morphologische Auswertung

2.5.2.1. Fixierung

Die Fixierung der frisch entnommenen Knochen erfolgte in einer Formolalkohollösung für mindestens drei Tage. Die Fixierlösung hatte folgende Zusammensetzung:

1. $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	4	g
2. Na_2HPO_4 (wasserfrei)	6,5	g
3. aqua dest.	800	ml
4. Formaldehydlösung (37%)	200	ml
5. Äthanol (99%)	570	ml

Die Phosphate wurden im Wasser aufgelöst und anschließend mit dem Formaldehyd und dem Alkohol vermischt.

2.5.2.2. Entkalkung

Nachdem die Metaphysen mit einer rotierenden Trennscheibe unter kontinuierlicher Spülung mit Kochsalzlösung abgetrennt worden waren, kamen die ca 15 mm langen Diaphysenstücke für 6-8 Wochen in eine Äthylendiaminessigsäure-Lösung. Die gesättigte Lösung des Dinatriumsalzes der Äthylendiaminessigsäure wurde mit 40% Natronlauge auf PH 7 eingestellt. Durch das Ausfällen komplexer Kalziumverbindungen kam es zu einer extrem gewebsschonenden Entkalkung der Knochen.

2.5.2.3. Einbettung in Methacrylat

Die entkalkten Knochen blieben über Nacht in 70%igem Alkohol in beschrifteten Gewebekapseln. Dann erfolgte die weitere Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe und im Schüttelbad bei 20°C mit absolutem Äthanol, das über ein Perlformsieb (3A) gewonnen wurde. Anschließend kamen die Knochen für 2-3 Stunden in ein Gemisch aus gleichen Teilen von 100%igem Alkohol und Methacrylat. Gleichzeitig wurde das Einbettungsgemisch aus 10 Teilen Methylmethacrylat, 3 Teilen Phtalsäuredibutylester (Weichmacher) und 2,3-2,7 Teilen Dichlorbenzoylperoxid (Härter) unter kräftigem Schütteln angesetzt. Die Imprägnierung der Proben mit diesem Gemisch erfolgte 20 Minuten lang im evakuierten Exsikkator und 2 Stunden im Schüttelbad. Dieser Vorgang wurde einmal wiederholt; dann verblieben die Knochen 12 Stunden im Einbettungsgemisch. Nachdem man die Luft über dem Einbettungsgemisch gegen Stickstoff ausgetauscht hatte, kam es im Warmwasserbad bei 48°C zum Anpolymerisieren des Kunstharzes. Nach dem Entfernen aus den Gewebekapseln geschah die endgültige Einbettung der Knochen mit dem Bohrloch nach unten in beschrifteten Rollrandschnappdeckelgläsern (10 ml, 21 mm Durchmesser) mit

vorgelassenem Boden. Nach 5-8 Stunden im Wasserbad bei 52°C härtete das Acrylat vollständig aus.

2.5.2.4. Anfertigung histologischer Schnitte

Die Schnittebene der 5 µm dicken Schnitte verlief parallel zur Knochenlängsachse und quer zum Bohrlochzylinder. Pro Knochen wurden am Hartschnittmikrotom Modell K der Fa. Jung, Heidelberg, mit dem Acrylatmesser Typ HK3 etwa 9 Schnitte in 50 µm Abstand gefertigt, im Wasserbad gestreckt und auf gelatinebeschichtete Objektträger gezogen. Die Gelatine zur Beschichtung der Objektträger hatte folgende Zusammensetzung:

Chromalaungelatine

1.	Aqua dest.	100	ml
2.	Gelatine	800	mg
3.	Chromalaun	80	mg
4.	Phenolkristalle	ca. 10	mg

Die Objektträger trockneten über Nacht in Pressbänkchen bei 35°C.

2.5.2.5. Färbung histologischer Schnitte

Die Färbung der histologischen Schnitte erfolgte mit Hämalaun nach Mayer und Gegenfärbung mit Eosin. Dadurch ließ sich der neugebildete Knochen deutlich von anderen Gewebsanteilen unterscheiden.

Hämalaun-Eosin-Färbung nach Mayer

- | | | |
|-----|---------|---|
| 1. | 3·5 min | Methylglykolacetat |
| 2. | 2·5 min | Alkohol 99% |
| 3. | 2 Std | Kardasewitschlösung
(180 ml Äthanol 80%, 20 ml Ammoniak 25%) |
| 4. | 3·5 min | Spülen in Brunnenwasser |
| 5. | 5 min | aqua dest |
| 6. | 4-6 Std | Hämalaun nach Mayer 43°C |
| 7. | kurz | Kaliumaluminiumsulfat 5% |
| 8. | 2·5 min | Spülen in Brunnenwasser |
| 9. | 5-6 min | Eosin (1%ig) |
| 10. | kurz | aufsteigende Alkoholreihe |
| 11. | 3·5 min | Xylol |
| 12. | | Eindeckeln mit Eukitt |

Abb. 2.5.2.1. zeigt einen derart angefärbten Schnitt.

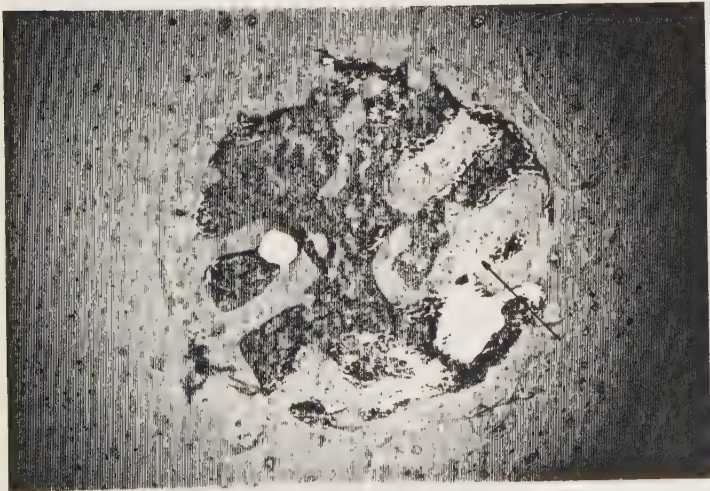


Abb. 2.5.2.1.: Histologisch gefertigter Querschnitt durch das Bohrloch. Der knöchern verschlossene Anteil des Bohrloches hebt sich deutlich ab (Pfeil).

2.5.2.6. Morphometrische Auswertung

Der Spiegelarm eines Zeichenmikroskopes projizierte das Bild der Magnetplatte eines halbautomatischen Analysegerätes (MOP der Fa. Kontron Electronics) in das Okular des Mikroskopes. Gleichzeitig konnte man den histologischen Schnitt des Knochens bei vierzigfacher Vergrößerung betrachten. Durch Umfahren der Konturen des Bohrloches mit einem Stift auf der Magnetplatte konnten die knöchern verschlossene, die offene und die Gesamtfläche des Bohrloches eines jeden histologischen Schnittes planimetrisch erfaßt werden.

2.6. Statistische Analyse der Ergebnisse

Für jeden histologischen Schnitt wurde der prozentual ausgedrückte Anteil der nicht knöchern verschlossenen Fläche an der Gesamtfläche des Bohrloches berechnet. Dieser Prozentsatz wurde für alle Schnittebenen eines jeden Knochens zusammengezählt und durch die Anzahl der Schnittebenen geteilt. Als Parameter für das System des standardisierten Bohrlochdefektes (% Bohrlochdefekt offen) war also ein relativer Wert verfügbar, der den nicht knöchern verschlossenen Volumensanteil am Gesamtvolumen wiedergab.

Die weitere statistische Auswertung der Resultate geschah im Rechenzentrum der GSF (MEDIS) unter Zuhilfenahme von SAS (Statistical Analysis System), eines Computer Software Systems zur Datenverarbeitung. Hierzu wurden die prozentual ermittelten Werte in ein quantales System umgesetzt. Dies erreichte man durch die Einstufung der Ergebnisse nach einem Alles-oder-

Nichts-Verfahren in größer ($=1$) oder kleiner ($=0$) als ein festzusetzender Mittelwert (zwischen 20 und 80 % Bohrlochdefekt offen). Die anschließende Probit-Analyse der quantalen Werte für die verschiedenen Dosisbereiche erlaubte die Erstellung einer sigmoiden Dosis-Effekt-Kurve mit symmetrischen Schenkeln (Finney, 1971). Die anhand der Probit-Analyse errechneten Dosen für die verschiedenen Effektwerte (ED20-ED80) unterschieden sich nicht signifikant von den nicht transformierten Werten, jedoch erleichterte diese Analyse die Berechnung von ED50 Werten und ihrer Konfidenzbereiche und somit die Ermittlung strahlenbiologisch interessanter Daten, wie z.B. relative biologische Wirksamkeit einzelner Strahlenarten oder Halbwertszeit der Erholung subletaler Strahlenschäden.

2.7. Planung der Experimente

2.7.1. Postoperative Einzelbestrahlung mit steigendem Intervall nach der Operation

Arnold (1984) untersuchte in seinen Versuchen den Einfluß verschieden großer Zeitintervalle zwischen der Bestrahlung und dem Setzen des Bohrlochdefektes. Die Resultate ließen keine signifikanten Unterschiede in der Strahlenempfindlichkeit des Knochenzuwachses erkennen. Selbst nach Intervallen von 6 Monaten kam es zu keiner Erholung vom Strahleninsult. Pilotexperimente wiesen jedoch darauf hin, daß sich bei der Ratte die Strahlenempfindlichkeit des chirurgisch stimulierten Knochens verminderte. Diese Feststellungen führten zu der Überlegung, die Versuchsanordnung umzukehren und den bereits traumatisierten Knochen zu bestrahlen. Die ersten Ergebnisse zeigten, daß Einzeldosen von 15-25 Gy, vier Tage nach dem Setzen des Bohrloches eingestrahlt, die knöcherne Heilung nicht mehr verhinderten.

Andererseits zeigten Resultate von nicht bestrahlten Knochen, die 2 Wochen nach dem Setzen des Defektes ausgewertet wurden, daß zu diesem Zeitpunkt etwa 40% des Bohrloches mit neugebildetem Knochen ausgefüllt war (Arnold, mündliche Mitteilung). Die Wahl der zu untersuchenden Zeitintervalle fiel somit auf 4 Tage und 14 Tage, um Vergleichsmöglichkeiten zu bereits bestehenden Daten zu haben und auf 24 Stunden, um abzuklären, ob ein wesentlicher Unterschied zu den präoperativ bestrahlten Knochen (-24 Stunden) besteht. Zusätzlich wurden die Intervalle 6 Stunden und 7 Tage nach der Operation untersucht, um den zeitlichen Verlauf einer möglichen Strahlenresistenz zu verfolgen. Die Wahl der Dosisgrößen beruhte auf der bestehenden Einzeldosiskurve ($ED_{50} = 16 \text{ Gy}$) der zunächst bestrahlten und anschließend traumatisierten Femora und lagen bei 15 Gy, 22 Gy und 30 Gy.

2.7.2. Präoperative Einzeitbestrahlung mit verschiedenen Strahlenarten

Zur eingehenderen Untersuchung der biologischen Eigenschaften therapeutischer Neutronen am Forschungsreaktor der Technischen Universität München in Garching (RENT I Strahl) und am Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg (KARIN) sowie von Pi-Mesonen am Schweizer Institut für Nuklearforschung bei Zürich sollte das Versuchsmodell des standardisierten Bohrlochdefektes herangezogen werden. Die relative biologische Wirksamkeit (RBW) einer Strahlung auf ein klar definiertes biologisches System berechnet sich aus dem Verhältnis der Energiedosis einer Vergleichsstrahlung zur Energiedosis der zu untersuchenden Strahlung, die den gleichen Effekt erzielt. Als Vergleichsdosis wird dabei die Wirkung einer 250 kV Röntgenstrahlung herangezogen (Herrmann, 1978). Die Wahl der Dosen für die Be-

strahlung am Forschungsreaktor in Garching basierte auf den von Kummermehr und Breiter für Dünndarmkrypten der Maus bzw. Enddarm der Ratte gefundenen RBW-Werten bei Einzelbestrahlung (Kummermehr et al. 1982,b, Koester, 1984, Breiter et al., 1986) und der von Arnold (1984) erstellten Einzelbestrahlungskurve mit 320 kV Röntgenstrahlen für das System des standardisierten Bohrlochdefektes. Während für die Dünndarmkrypten eine RBW von 2,6 für den RENT I Strahl gefunden wurde, lag diese für die Rektumbestrahlung bei 1,8. Von Hopewell et al. (1982) durchgeführte Experimente an Schweinehaut und Lunge konnten bei Einzelbestrahlung mit 42 MeV Neutronen RBW-Werte von 1,3 bzw 1,2 nachweisen. Bei den ersten Bestrahlungen mit dem RENT I Strahl wurde die Dosierung anhand einer tentativen RBW von 1,5 festgelegt.

Die RBW der 14 MeV Neutronen auf die Dünndarmkrypten betrug für die Einzelbestrahlung 1,6, sie war also deutlich kleiner als bei den 2 MeV Neutronen (Kummermehr et al., 1982,b). Dieses Ergebnis entspricht der Regel, daß mit steigenden Neutronenenergien die RBW kontinuierlich abnimmt (Field und Hornsey, 1971). Bei der Planung des Experimentes wurde daher die RBW auf 1,4, also etwas kleiner als in Garching (1,5) geschätzt.

Die von Yuhas et al. (1979) beschriebene Energieverteilung der Pi-Mesonen im Vergleich zu den Neutronen und Photonen läßt eine niedrigere RBW für den mittlereenergetischen Pi-Mesonen-Strahl erwarten als für die 14 MeV Neutronen. Allerdings dürfte die biologische Wirksamkeit des Strahles nicht niedriger als die von 250 kV Röntgen sein. Darum wurde bei der Experimentplanung eine RBW von 1,0-1,2 vorausgesetzt.

2.7.3. Fraktionierte Röntgenbestrahlung mit unvollständiger Erholung

Nachdem die Ergebnisse einer fraktionierten Bestrahlung mit kompletter Erholung zwischen den Fraktionen am Modell des standardisierten Bohrlochdefektes bereits vorlagen (Arnold, 1984, 1985) sollte in weiteren Versuchen die Kinetik der Erholung durch Verkürzen der Zeitspannen zwischen den Fraktionen untersucht werden. Auch hier erfolgte, wie bei den Fraktionierungsexperimenten von Arnold, der operative Eingriff 24 Stunden nach der Applikation der letzten Dosis. Zur Berechnung der Fraktionierungsdosen wurde das linear-quadratische Modell benutzt (Douglas und Fowler, 1976; Fowler, 1984,a,b). Die Wahl der gewebsspezifischen Fraktionierungskonstante (α/β) basiert auf dem von Arnold (1984) ermittelten α/β -Wert von 3,6 Gy. Die zu applizierenden Gesamtdosen und die Dosen pro Fraktion wurden für vier verschiedene Bereiche und vier Fraktionen erstellt und sind in Tab. 2.7.1. wiedergegeben. Die Dosis pro Fraktion berechnet sich aus der Gesamtdosis geteilt durch die Anzahl der Fraktionen. Da es bei einer fraktionierten Bestrahlung während der Zeitspanne zwischen den Fraktionen zu einer partiellen Erholung des gesetzten Schadens kommt, ist zu erwarten, daß die gleicheffektive Gesamtdosis nach vier Fraktionen viel größer ist als die Einzeildosis.

Tab. 2.7.1.: 4-Fraktionen-Experiment, Planung der Dosisgruppen

Einzeildosis	Gesamtdosis	Dosis/Fraktion
13,0 Gy	23,04 Gy	5,75 Gy
15,0 Gy	26,96 Gy	6,74 Gy
17,0 Gy	30,92 Gy	7,73 Gy
19,0 Gy	34,87 Gy	8,71 Gy

Allerdings haben diese isoeffektiven Gesamtdosen nur Gültigkeit bei vollständigen Erholungszeiten zwischen den Fraktionen. Wird das Bestrahlungsintervall jedoch verkürzt, so kann zwischen zwei Bestrahlungen weniger erholt werden und die Isoeffektdosis wird somit kleiner. Ausgehend von einer exponentiellen Abnahme des subletalen Strahlenschadens wurden die zu applizierenden Dosen für die Intervalle 1, 2, 4 und 12 Stunden unter Berücksichtigung einer angenommenen Halbwertszeit von einer Stunde berechnet:

Berechnung der Dosen pro Fraktion

Das linear-quadratische Modell beruht auf der Hypothese, daß der Logarithmus der überlebenden Fraktion der bestrahlten Zellen zum einen linear mit der Dosis (Proportionalitätsfaktor α) zum anderen auch mit dem Quadrat der Dosis (Proportionalitätsfaktor β) abnimmt.

$$-\log(SF) = \alpha D + \beta D^2$$

wobei: SF = überlebende Fraktion

D = Dosis.

Die Gleichung beschreibt zwei voneinander unabhängige Prozesse, wovon jeder für sich allein den Zelltod verursachen kann (Dale, 1985). α repräsentiert die Komponente, die unmittelbar zum Zelltod führt, und β ist die Komponente eines subletalen, also reparablen Schadens, der erst durch Interaktion zum Zelltod führt. Barendsen (1982,b) entwickelte einen allgemeineren Formalismus, der es erlaubte, das linear-quadratische Modell auf Gewebe mit unterschiedlichen Zellen zu übertragen. Er zeigte, daß ein definierter biologischer Effekt (E) in eine Beziehung zur Dosis zu setzen sei, die ebenfalls einen linearen (α) und einen quadratischen (β) Anteil besitzt:

$$E = \alpha D + \beta D^2$$

Wenn man nun eine fraktionierte Bestrahlung betrachtet, dann kann man davon ausgehen, daß der Effekt nach dem Verabreichen einer Fraktion (E') durch folgende Formel wiedergegeben wird:

$$E' = \alpha d + \beta d^2$$

und für die Verabreichung von n Fraktionen bedeutet das:

$$E = nE' = n(\alpha d + \beta d^2)$$

Diese Formel hat allerdings nur Gültigkeit, wenn gleich hohe Fraktionen gleich wirksam sind. Dies ist z.B. dann nicht gegeben, wenn die Zeit zwischen den Fraktionen nicht lang genug ist, um die Erholung ablaufen zu lassen, oder wenn sich die Empfindlichkeit der Zelle aus anderen Gründen ändert, z.B. durch Umverteilung der Zellen im Zellzyklus oder durch Änderung der Sauerstoffspannung im Gewebe.

Für gleich wirksame, aber unterschiedlich fraktionierte Bestrahlungen kann daraus für komplette Erholung zwischen den Fraktionen die Berechnung isoeffektiver Dosen erfolgen, z.B.:

$$\alpha D + \beta D^2 = n(\alpha d + \beta d^2)$$

wobei: n = Anzahl Fraktionen
 d = Dosis pro Fraktion
 nd = Gesamtdosis
 D = Einzeitdosis;

$$1/\beta \cdot (\alpha D + \beta D^2) = 1/\beta \cdot n(\alpha d + \beta d^2)$$

$$(\alpha/\beta)D + D^2 = n((\alpha/\beta)d + d^2)$$

$$(\alpha/2\beta)^2 + (\alpha/\beta)D + D^2 = n((\alpha/\beta)d + d^2) + (\alpha/2\beta)^2$$

$$((\alpha/2\beta) + D)^2 = n((\alpha/\beta)d + d^2) + (\alpha/2\beta)^2$$

$$D = \sqrt{n((\alpha/\beta)d + d^2) + (\alpha/2\beta)^2} - (\alpha/2\beta);$$

schließlich:

$$d = \sqrt{((\alpha/\beta)D + D^2)/n + (\alpha/2\beta)^2} - (\alpha/2\beta) \quad (1)$$

Die nach dieser Formel berechneten Gesamtdosen und die Dosen pro Fraktion sind für die verschiedenen Einzeldosisäquivalente in der Tab. 2.7.2. dargestellt.

Die erholte Dosis pro Fraktion wird nach folgender Formel

$$d_e = (nd - D)/(n-1) \quad (2)$$

berechnet, wobei:

d_e = erholte Dosis,

nd = Gesamtdosis der vier Fraktionen

D = Einzeildosis

$n-1$ = Anzahl der Erholungsphasen zwischen den Fraktionen

Neben der bereits beschriebenen linear-quadratischen Dosiswirkungsbeziehung geht man bei der experimentellen Ermittlung der Repair-Kinetik von subletalen Strahlenschäden von einem exponentiellen Verlauf der Erholung aus. Dies wird in der folgenden Formel ausgedrückt:

$$d_e = (1 - 1/(2^{t/t^{0.5}})) \cdot d_{me} \quad (3)$$

d_e = erholte Dosis für das Intervall t

t = Intervall zwischen zwei Fraktionen

$t^{0.5}$ = Halbwertszeit

d_{me} = maximal erholbare Dosis, dies hat Gültigkeit für Intervalle, bei denen die Halbwertszeit der Erholung um ein Vielfaches überschritten wird.

Für dieses Experiment wurde die Halbwertszeit auf eine Stunde geschätzt ($t^{0.5} = 60 \text{ min}$), das ergibt für die Bestrahlung folgende Werte:

Tab. 2.7.2.: Berechnung der zu verwendenden erhaltenen Dosen pro Fraktion

EDÄ	GD	D/F	d_{me}	4hD/F	2hD/F	1hD/F
13,0	23,04	5,75	3,33	3,12	2,50	1,67
15,0	26,96	6,74	3,99	3,74	2,99	1,99
17,0	30,92	7,73	4,64	4,35	3,48	2,32
19,0	34,87	8,71	5,29	4,96	3,97	2,64

EDÄ = Einzeldosisäquivalent (Gy)

GD = Gesamtdosis nach Formel (1) (Gy)

D/F = Dosis pro Fraktion (Gy)

d_{me} = maximal erholbare Dosis pro Fraktion nach Formel (2) (Gy)

4hD/F = erholbare Dosis pro Fraktion nach 4 Stunden (Gy) nach Formel (3), ($t^{0.5} = 60 \text{ min}$)

2hD/F = erholbare Dosis pro Fraktion nach 2 Stunden (Gy) nach Formel (3), ($t^{0.5} = 60 \text{ min}$)

1hD/F = erholbare Dosis pro Fraktion nach 1 Stunde (Gy) nach Formel (3), ($t^{0.5} = 60 \text{ min}$)

Entspricht das gewählte Intervall (t) genau der Halbwertszeit ($t = t^{0.5}$), dann ist die erholte Dosis ($d_{me}/2$). Bei vier Fraktionen besteht dreimal die Möglichkeit, Strahlenschaden zu erholen. Um den gleichen biologischen Effekt wie bei voller Erholung zu erzielen, muß man also $3 \cdot (d_{me}/2)$ von der errechneten Gesamtdosis abziehen. Ist t verschieden von der Halbwertszeit, dann muß die entsprechend berechnete erholte Dosis pro Fraktion mit 3 multipliziert und von der Gesamtdosis abgezogen werden. Diese Resultate sind in Tab. 2.7.3. wiedergegeben.

Tab. 2.7.3.: Erwartete Isoeffektdosen für Bestrahlungen mit
4 Fraktionen und Intervallen von 1-12 Stunden

EDÄ	GD	12h	4h	2h	1h
13,0	23,04	23,0	22,4	20,5	18,0
15,0	26,96	27,0	26,2	24,0	21,0
17,0	30,92	30,9	30,1	27,4	24,0
19,0	34,87	34,9	33,8	30,9	26,9

EDÄ = Einzeldosisäquivalent (Gy)

GD = Gesamtdosis nach Formel (1) (Gy)

12h = umgerechnete Gesamtdosis nach 12 Stunden (Gy)

4h = umgerechnete Gesamtdosis nach 4 Stunden (Gy)

2h = umgerechnete Gesamtdosis nach 2 Stunden (Gy)

1h = umgerechnete Gesamtdosis nach 1 Stunde (Gy)

3. Ergebnisse

3.1. Klinische Beobachtungen

Die regelmäßigen Untersuchungen der Tiere zeigten, daß es zu keiner Zeit zu einer motorischen Beeinträchtigung kam. Bereits kurz nach der Operation waren die hinteren Extremitäten wieder voll belastbar. Ein einziges Tier wies im Verlauf der sieben Wochen nach der Operation eine haselnußgroße Zubildung mit knöcherner Konsistenz im proximalen Bereich der Femurdiaphyse auf. Bei zwei Tieren, die am Forschungsreaktor München in Garching bestrahlt wurden, kam es 17-21 Tage nach der Bestrahlung zu einer Vermehrung des Bauchumfanges, gesträubtem Fell und deutlicher Apathie. Die Sektion der Tiere zeigte eine Anschoppung von Kotballen im Colon und eine eitrige Entzündung der Uterusschleimhaut. Diese Veränderungen werden auf eine Mitbestrahlung der Beckengegend zurückgeführt.

Die Tiere unterlagen einer regelmäßigen Gewichtskontrolle. In den sieben Wochen nach der Operation wurden maximale Gewichtsverluste von 10% gemessen, meistens blieben jedoch die Gewichte konstant oder es kam zu einer leichten Gewichtszunahme.

Die ersten Hautreaktionen konnten ca 2 Wochen nach der Bestrahlung beobachtet werden. Je nach Dosis kam es zunächst zu einem lokalen Erythem mit vollständiger Epilation. Bei hohen Dosen (über 25 Gy Einzeitdosis) bildet sich dann gelbliches Exsudat, das vor allem in den Hautfalten und im Innenschenkelbereich zu Krustenbildung neigte. Nach 4 Wochen bildeten sich die Veränderungen zurück, und der Haarwuchs setzte bei niedrigen Dosen wieder ein. Bei Einzeitdosen über 35 Gy war die Wundheilung beeinträchtigt, die Wunde war zwar verschlossen, konnte aber auf mäßigen Zug hin wieder eröffnet werden.

Die Hautreaktionen, die nach Bestrahlung mit Neutronen beobachtet wurden, waren deutlich stärker als bei gleichen Dosen mit 320 kV Röntgenstrahlen; die am SIN mit Pi-Mesonen bestrahlten Hautfelder waren hingegen kaum stärker verändert als nach gleich hohen Röntgendosen.

3.2. Postoperative Einzelbestrahlung mit steigendem Intervall nach der Operation

3.2.1. Histometrische Darstellung der Resultate

Um den Verlauf der Knochenheilung bei steigenden Intervallen zwischen Operation und Bestrahlung zu untersuchen, wurden 5 verschiedene Zeitabstände gewählt. Die histometrischen Ergebnisse und die Mittelwerte sowie die Standardabweichungen pro Dosisgruppe werden in den nachfolgenden Tabellen wiedergegeben.

In einem Pilotexperiment mit 6 Tieren sollte geklärt werden, ob ein meßbarer Unterschied in der Strahlenempfindlichkeit der knöchernen Heilung 24 Stunden vor und nach der Operation besteht. Die in Tab. 3.2.1. aufgeführten Mittelwerte zeigen eine deutliche Dosisabhängigkeit der Ergebnisse, die in gleicher Form aus der Abb. 3.2.1. ersichtlich wird. Während bei 15 Gy die Schwankungen in der Gruppe noch beträchtlich sind (20% - 60% nicht knöchern verschlossen), ist dies bei 22 Gy schon weniger und bei 30 Gy nicht mehr der Fall.

Tab. 3.2.1.: histometrische Ergebnisse nach Einzeitbestrahlung
mit 320 kV Röntgenstrahlen 24 Stunden nach
Operation

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
15,0	15	8	R	19,6		
15,0	15	9	L	25,4	33,7	17,8
15,0	16	7	R	26,9		
15,0	16	6	L	60,1		
22,0	22	9	R	92,6		
22,0	22	9	L	98,8	87,9	11,1
22,0	23	9	R	64,7		
22,0	23	6	L	95,3		
30,0	24	7	R	98,7		
30,0	24	9	L	90,6	92,6	4,6
30,0	25	8	R	90,0		
25,0	25	9	L	95,1	95,1	-

R = rechts L = links

Anzahl Schnitte = Anzahl der pro Knochen ausgewerteten Schnitte
Prozent offen = Anteil in Prozent des nicht knöchernen
verschlossenen Bohrlochvolumens.

Varianz: $s^2 = (N-1)^{-1} \cdot \text{Sum}(X_i - \text{Mw})^2$

wobei N = Anzahl Ergebnisse, Sum = Summe, Mw = Mittelwert;
Standardabweichung = s.

6 Tiere wurden 6 Stunden nach der Operation mit gleich großen Dosen bestrahlt wie die Tiere aus dem 24-Stunden-Experiment. Die extrem hohe Standardabweichung bei 22 Gy spiegelt die starken individuellen Unterschiede in dieser Dosisgruppe wider und deutet darauf hin, daß für dieses Zeitintervall der kritische Dosisbereich um 22 Gy liegt. In der Abb. 3.2.1. erkennt man

eine größere Stahlenresistenz beim 6-Stunden-Intervall als beim 24-Stunden-Intervall. Während 24 Stunden nach einer Dosis von 22 Gy im Durchschnitt fast 90 Prozent des Bohrloches offen blieben, lag dieser Wert nach 6 Stunden nur bei 60 Prozent.

Tab. 3.2.2.: histometrische Ergebnisse nach Einzeitbestrahlung
mit 320 kV Röntgenstrahlen 6 Stunden nach
Operation

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
15,0	13	9	R	35,0		
15,0	13	7	L	25,0	25,4	7,1
15,0	14	9	R	23,4		
15,0	14	8	L	18,2		
22,0	18	9	R	23,5		
22,0	18	9	L	97,8	62,7	33,4
22,0	19	9	R	44,0		
22,0	19	4	L	85,7		
30,0	21	9	R	95,1		
30,0	21	7	L	95,0	93,4	4,8
30,0	22	9	R	86,4		
30,0	22	8	L	97,2		

R = rechts L = links

Anzahl Schnitte = Anzahl der pro Knochen ausgewerteten Schnitte
Prozent offen = Anteil in Prozent des nicht knöchern
verschlossenen Bohrlochvolumens.

Varianz: $s^2 = (N-1)^{-1} \cdot \text{Sum}(X_i - \text{Mw})^2$

wobei N = Anzahl Ergebnisse, Sum = Summe, Mw = Mittelwert;
Standardabweichung = s.

Nachdem einige von Arnold und Pfeifer (1985) durchgeführte Pilotexperimente gezeigt hatten, daß 4 Tage nach der Operation lokal eingestrahlte Dosen von 15 Gy bis 22 Gy die knöcherne Heilung nicht meßbar beeinflussen konnten, wurden nun 4 weitere Gruppen zu je 5 Tieren mit Dosen von 27,5 Gy bis 35 Gy bestrahlt. Die Resultate zeigen, daß bei manchen Tieren bereits nach 27,5 Gy der maximale Effekt zu 50 % erreicht wird, bei anderen jedoch selbst die höchste Dosis von 35 Gy nicht ausreicht, um überhaupt einen Effekt zu erzielen. Die Mittelwerte der Dosisgruppen schwanken zwischen 20% und 50% und lassen keine eindeutige Tendenz erkennen. Dies kommt auch in der Abb. 3.2.1. zum Ausdruck. Es ist jedoch deutlich, daß die Strahlenresistenz 4 Tage nach der Operation im Vergleich zu den kürzeren Intervallen und der Bestrahlung vor dem Setzen des Bohrlochdefektes stark zunimmt .

Tab. 3.2.3.: histometrische Ergebnisse nach Einzeitbestrahlung
mit 320 kV Röntgenstrahlen 4 Tage nach Operation

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
27,5	256	8	R	40,9		
27,5	256	9	L	50,5		
27,5	257	7	R	27,6	25,6	17,1
27,5	258	9	L	5,0		
27,5	259	9	R	10,2		
27,5	259	9	L	19,8		
30,0	266	7	R	8,4		
30,0	266	8	L	90,5		
30,0	267	8	R	60,8		
30,0	267	3	L	29,0	44,6	31,0
30,0	8	8	R	23,0		
30,0	8	8	L	3,5		
30,0	9	6	R	29,0		
30,0	9	5	L	71,5		
30,0	10	9	R	49,0		
30,0	10	8	L	86,5		
32,5	260	9	R	3,6		
32,5	260	9	L	2,4		
32,5	261	8	R	41,7		
32,5	261	9	L	12,0	22,0	22,8
32,5	262	8	R	31,5		
32,5	263	7	R	5,4		
32,5	263	6	L	61,6		
35,0	11	9	R	39,0		
35,0	12	9	R	2,0		
35,0	12	8	L	2,5		
35,0	264	7	R	98,4	46,1	43,4
35,0	264	8	L	10,5		
35,0	265	8	R	77,8		
35,0	265	3	L	95,0		

R = rechts L = links

Anzahl Schnitte = Anzahl der pro Knochen ausgewerteten Schnitte
Prozent offen = Anteil in Prozent des nicht knöchern
verschlossenen Bohrlochvolumens.

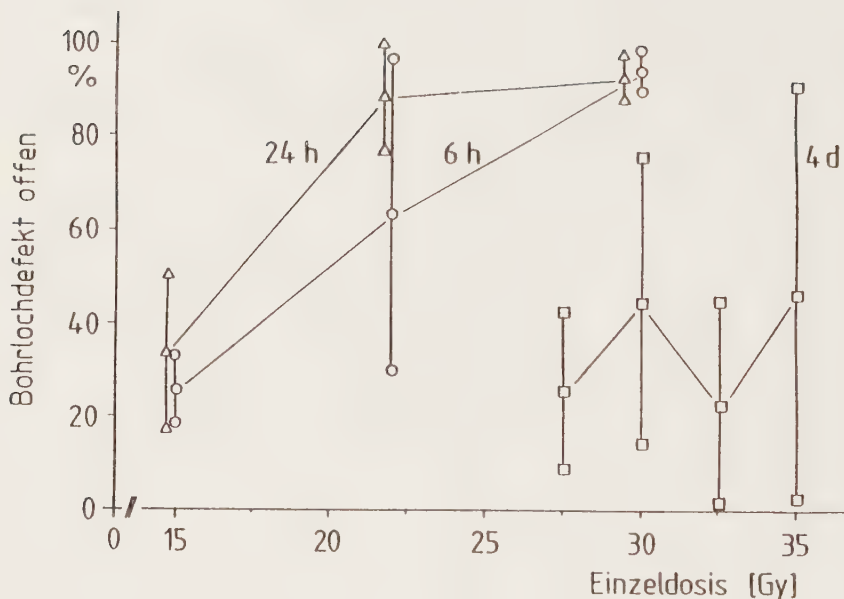


Abb. 3.2.1.: Einzeitbestrahlung mit Intervallen von 6 Stunden, 24 Stunden und 4 Tagen nach der Operation. Darstellung der Ergebnisse aus den Tabellen 3.2.1., 3.2.2. und 3.2.3. Die Mittelwerte des nicht knöchern verschlossenen Anteils am Bohrloch und ihre Standardabweichungen werden prozentual ausgedrückt und gegen die Dosis aufgelistet.

Um die Strahlenempfindlichkeit der knöchernen Heilung 7 Tage nach dem Setzen des Bohrlochdefektes zu untersuchen wurden, in einem Pilotexperiment zunächst 7 Tiere mit Dosen von 15 Gy bis 30 Gy bestrahlt. Die erzielten Resultate zeigten jedoch, daß

weitaus höhere Dosen nötig sind, um zu diesem Zeitpunkt den Zuwachs des Bohrloches mit neugebildetem Knochen zu verhindern. Daraufhin wurden 4 weitere Gruppen zu je 4 Tieren mit Dosen von 30 Gy bis 37,5 Gy bestrahlt. Auffallend bei diesen Resultaten ist, daß -bis auf wenige Ausnahmen- die Bohrlöcher nach der Heildauer von 7 Wochen komplett knöchern verschlossen sind. Während bei kürzeren Intervallen es noch zu erheblichen individuellen Schwankungen innerhalb einer Dosisgruppe kam, sind hier nahezu alle Resultate konstant. Die Resultate sind in der Abb. 3.2.2. dargestellt.

Tab. 3.2.4.: histometrische Ergebnisse nach Einzeitbestrahlung mit 320 kV Röntgenstrahlen 7 Tage nach Operation

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
15,0	1	8	R	11,1		
15,0	1	9	L	9,3	6,7	6,3
15,0	2	7	R	0,0		
15,0	2	6	L	0,0		
22,0	3	9	R	0,0		
22,0	5	9	R	0,0	0,0	0,0
22,0	5	6	L	0,0		
25,0	6	9	R	0,0		
25,0	6	9	L	0,0	7,5	14,5
25,0	7	9	R	0,0		
25,0	7	6	L	30,3		
30,0	4	7	R	0,0		
30,0	272	7	R	1,7		
30,0	272	8	L	1,9		
30,0	273	8	R	0,0		
30,0	273	9	L	25,7	3,0	8,2
30,0	274	7	R	0,0		
30,0	274	8	L	0,0		
30,0	275	8	R	0,0		
30,0	275	3	L	0,0		

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
32,5	278	9	R	0,0		
32,5	278	9	L	0,0		
32,5	279	8	R	0,0		
32,5	279	9	L	0,0	0,0	0,0
32,5	284	7	R	0,0		
32,5	284	6	L	0,0		
32,5	285	8	R	0,0		
32,5	285	6	L	0,0		
35,0	268	7	R	0,0		
35,0	268	8	L	1,9		
35,0	269	8	R	0,0		
35,0	269	3	L	9,4	1,2	3,3
35,0	270	7	R	0,0		
35,0	270	8	L	0,0		
35,0	271	8	R	0,0		
35,0	271	3	L	0,0		
37,5	280	8	R	0,0		
37,5	280	9	L	0,0		
37,5	281	7	R	0,0		
37,5	281	9	L	0,0	0,0	0,0
37,5	282	9	R	0,0		
37,5	282	9	L	0,0		
37,5	283	9	R	0,0		
37,5	283	9	L	0,0		

R = rechts L = links

Anzahl Schnitte = Anzahl der pro Knochen ausgewerteten Schnitte

Prozent offen = Anteil in Prozent des nicht knöchern
verschlossenen Bohrlochvolumens.

Varianz: $s^2 = (N-1)^{-1} \cdot \text{Sum}(X_i - \text{Mw})^2$

wobei N = Anzahl Ergebnisse, Sum = Summe, Mw = Mittelwert;

Standardabweichung = s.

Zur Untersuchung der Strahlenwirkung auf die Defektheilung zwei Wochen nach dem Setzen des Defektes wurden 7 Tiere mit Dosen von 22 Gy, 25 Gy und 30 Gy bestrahlt. Die erzielten Resultate liegen dosisunabhängig zwischen 4% und 11% Bohrlochdefekt offen. Die Schwankungen innerhalb der Gruppen sind sehr klein und bei der histologischen Auswertung fällt besonders auf, daß die periostnahen Schnitte vollkommen knöchern verschlossen sind und die marknahen Schnitte im neugebildeten Knochen einige unverschlossene Löcher aufweisen, was bei dem 7-Tage-Intervall nicht der Fall war. In der Abb. 3.2.2. liegen daher die Mittelwerte des 14-Tage-Intervalls etwas oberhalb der Resultate nach 7 Tagen.

Tab. 3.2.5.: histometrische Ergebnisse nach Einzeitbestrahlung mit 320 kV Röntgenstrahlen 14 Tage nach Operation

Dosis (Gy)	Tier-nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittelwert	Standardabweichung
22,0	27	9	R	10,2	8,5	2,4
22,0	27	6	L	.5,3		
22,0	28	9	R	10,8		
22,0	28	6	L	.9,6		
26,0	29	9	R	.6,0	5,3	2,0
26,0	29	9	L	.4,3		
26,0	30	9	R	.7,5		
26,0	30	9	L	.3,8		
26,0	31	9	R	.8,1		
26,0	31	9	L	.4,3		
30,0	32	9	R	11,3	6,7	3,5
30,0	32	9	L	.4,9		
30,0	34	9	R	.8,4		
30,0	34	9	L	.4,0		

R = rechts L = links

Anzahl Schnitte = Anzahl der pro Knochen ausgewerteten Schnitte
 Prozent offen = Anteil in Prozent des nicht knöchern verschlossenen Bohrlochvolumens.

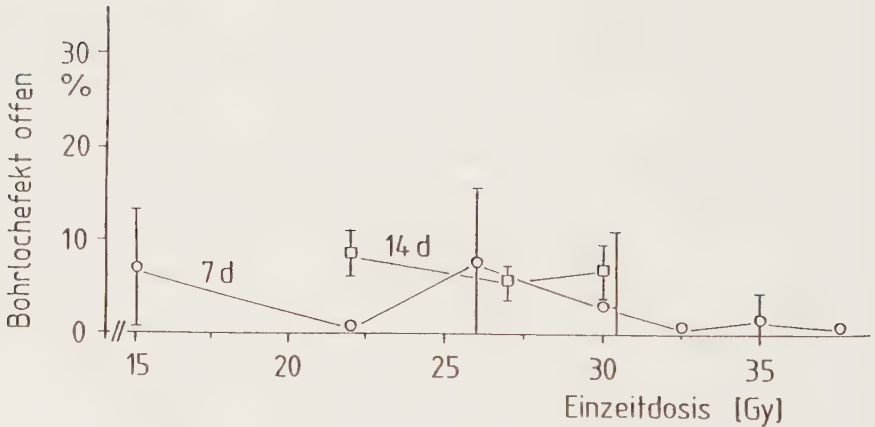


Abb. 3.2.2.: Einzeildosis mit Intervallen von 7 Tagen und 14 Tagen nach der Operation. Darstellung der Ergebnisse aus den Tabellen 3.2.4. und 3.2.5. Die Mittelwerte des nicht knöchern verschlossenen Anteils am Bohrloch und ihre Standardabweichungen werden prozentual ausgedrückt und gegen die Dosis aufgelistet.

3.2.2. Quantale Darstellung der Resultate

Die in der Abb. 3.2.3. dargestellten sigmoiden Kurven basieren auf einer quantalen Analyse der Resultate, deren Ergebnisse in der nachfolgenden Tabelle wiedergegeben sind. Die Kurven geben die prozentual ausgedrückte Wahrscheinlichkeit wieder, für eine bestimmte Dosis einen vorher festgelegten Effekt zu erreichen.

Die ED50 ist der Dosiswert, bei dem für 50 % der Tiere der definierte Effektlevelevel, im vorliegenden Falle 50% Bohrlochdefekt offen, erreicht wird. Die Wahl des Effektlevelevels bei 50 % liegt in der Tatsache begründet, daß hier die Unterschiede zwischen 24-Stunden- und 6-Stunden-Intervall am deutlichsten werden. Die Probit-Analyse des 4-Tage-Intervalls zeigt, daß die ED50 für dieses Intervall sehr hoch anzusetzen ist (>40 Gy) und eine Analyse der 7- und 14-Tage-Resultate nach dieser Methode ist nicht mehr möglich. Die Abbildung zeigt, daß keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ergebnissen der Bestrahlung vor (-24h) und nach (24h) der Operation besteht. Die Kurve des 6-Stunden-Intervalls liegt deutlich nach rechts verschoben und verläuft fast parallel zu den beiden vorhergehenden. Die 4-Tage-Kurve liegt hingegen viel flacher als die anderen und erreicht selbst nach 50 Gy noch keine Wahrscheinlichkeit von mehr als 80% für die Unterdrückung der Knochenheilung.

Tab. 3.2.6.: Quantale Ergebnisse

Intervall	Dosis	Anzahl Knochen	Anzahl >50%	%
6 Std	15,0 Gy	4	0	0
	22,0 Gy	4	2	50
	30,0 Gy	4	4	100
24 Std	15,0 Gy	4	1	25
	22,0 Gy	4	4	100
	30,0 Gy	3	3	100
4 Tage	27,5 Gy	6	1	17
	30,0 Gy	10	4	40
	32,5 Gy	7	1	14
	35,0 Gy	7	3	43

Anzahl Knochen (A) = Anzahl der ausgewerteten Knochen pro Dosisgruppe

Anzahl >50% (B) = Anzahl der Knochen, bei denen mehr als die Hälfte des Bohrlochvolumens nicht knöchern verschlossen ist.

% = prozentualer Anteil von B an A.

Wahrscheinlichkeit $\geq 50\%$ Bohrlochdefekt offen

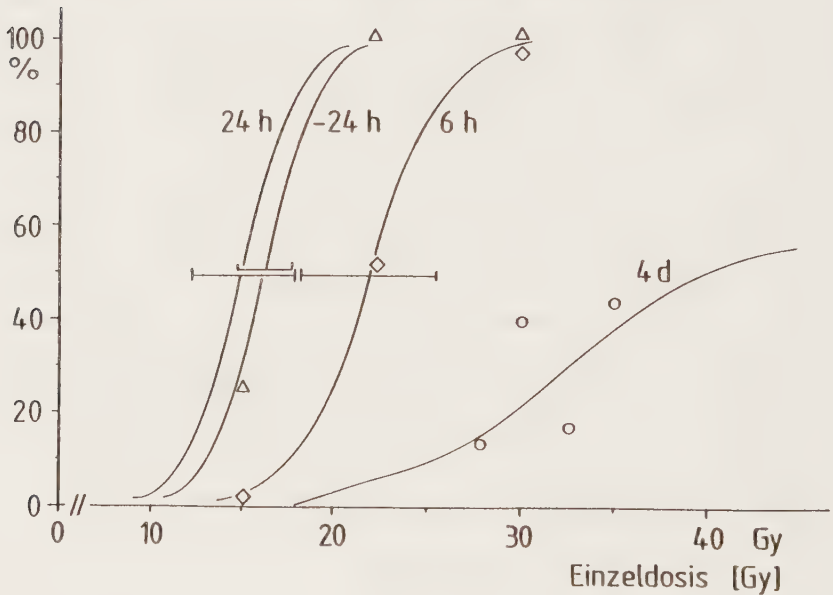


Abb. 3.2.3.: Probit-Analyse der Einzeitbestrahlung 6 Stunden, 24 Stunden und 4 Tage nach der Operation. Als Vergleich wurde die Bestrahlung 24 Stunden vor der Operation (-24h) herangezogen. Die Balken geben den 95%-Vertrauensbereich der ED50 wieder.

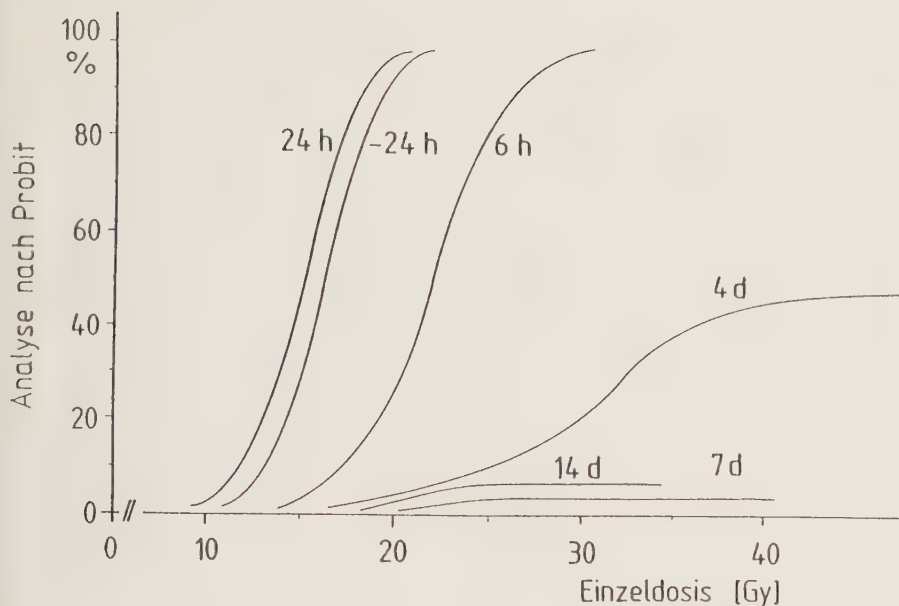


Abb. 3.2.4.: Schematische Darstellung der Ergebnisse der Einzelbestrahlung mit unterschiedlichen Intervallen nach der Operation. Die Vergleichsgruppe (-24h) zeigt die Einzelbestrahlung 24 Stunden vor der Operation. Die sigmoiden Dosis-Effekt-Kurven beruhen auf den nach Probit erstellten Daten (siehe Abb. 3.2.3.), die 7-Tage- und 14-Tage-Kurven erreichen ein Plateau für den Durchschnitt der Mittelwerte.

3.3. Präoperative Einzelbestrahlung mit verschiedenen Strahlenarten

3.3.1. Forschungsreaktor München-Garching

In einem ersten Experiment wurden die Tiere mit 8,7-11,5 Gy (Gesamtdosis bestehend aus der Neutronendosis und der Gammadosis) bestrahlt, was einem RBW-Wert von 1,5 entspräche. Die Ergebnisse zeigten aber, daß die geschätzte RBW zu hoch angesetzt war, und somit wurden die 2 Gruppen mit Dosen von 12,5 Gy und 13,5 Gy nachbestrahlt. Die Ergebnisse der histometrischen Auswertung sind in Tab. 3.3.1. dargestellt. Die Resultate zeigen mit zunehmender Dosis eine kontinuierliche Zunahme des erzielten Effektes bis hin zu einem Maximum von 80% des Bohrloches, das nicht mehr knöchern verschlossen wurde. Die individuellen Schwankungen sind in den beiden niedrigsten Dosisgruppen sehr klein und nehmen dann zu bis zur zweithöchsten Gruppe, um in der höchsten Gruppe wieder abzunehmen. Dies deutet darauf hin, daß der kritische Dosisbereich für diesen Strahl und das gewählte Modell zwischen 10 Gy und 14 Gy liegen dürfte. Bei der Applikation höherer Dosen würden nahezu alle Ergebnisse oberhalb von 80% liegen und bei tieferen Dosen unterhalb von 20%. Abb. 3.3.1. zeigt die Mittelwerte der Effekte und ihre Standardabweichung im Vergleich zur Dosis.

Tab. 3.3.1.: histometrische Ergebnisse der Einzeitbestrahlung
mit 2 MeV Neutronen

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
8,7	96	9	R	8,3		
8,7	96	7	L	11,7		
8,7	97	8	R	9,4		
8,7	97	7	L	7,7	8,4	1,8
8,7	98	9	R	10,6		
8,7	98	5	L	6,4		
8,7	99	7	R	8,3		
9,4	104	4	R	11,6		
9,4	104	8	L	7,9		
9,4	105	3	R	10,0		
9,4	105	7	L	5,6	8,0	1,8
9,4	106	6	R	10,0		
9,4	106	7	L	8,9		
9,4	107	8	R	5,8		
10,8	101	6	R	15,9		
10,8	102	8	R	23,5		
10,8	102	6	L	8,4	12,0	7,1
10,8	103	7	R	5,2		
10,8	103	6	L	9,6		
11,5	172	9	L	35,7		
11,5	172	9	R	24,8		
11,5	173	9	L	36,9		
11,5	173	7	R	58,1	45,5	13,2
11,5	174	8	L	42,4		
11,5	174	7	R	51,6		
11,5	175	9	L	59,5		
12,5	175	7	R	59,4		
12,5	176	8	L	67,1		
12,5	176	9	R	70,2		
12,5	177	8	L	77,7	71,8	16,4
12,5	178	7	R	86,9		
12,5	178	6	L	38,3		
12,5	179	7	R	80,3		
12,5	179	5	L	85,4		

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
---------------	-----------------	--------------------	-------	------------------	-----------------	-------------------------

13,5	180	7	R	64,8		
13,5	180	5	L	90,7		
13,5	181	9	R	86,1		
13,5	181	7	L	69,0	80,1	10,1
13,5	182	9	R	92,3		
13,5	182	6	L	74,7		
13,5	183	9	R	82,6		
13,5	183	9	L	84,7		

Dosis (Gy) bezeichnet die Gesamtdosis von Neutronen und Gammastrahlen

R = rechts L = links

Anzahl Schnitte = Anzahl der pro Knochen ausgewerteten Schnitte
 Prozent offen = Anteil in Prozent des nicht knöchern
 verschlossenen Bohrlochvolumens.

Varianz: $s^2 = (N-1)^{-1} \cdot \text{Sum}(X_i - \text{Mw})^2$

wobei N = Anzahl Ergebnisse, Sum = Summe, Mw = Mittelwert;
 Standardabweichung = s.

3.3.2. DKFZ-Heidelberg

Die Berechnung der zu applizierenden Einzeildosen für den 14 MeV Neutronenstrahl in Heidelberg beruhte auf einem tentativen RBW-Wert von 1,4. Die ersten Ergebnisse zeigten jedoch, daß die RBW noch niedriger liegen mußte, deshalb wurden 4 Gruppen mit Dosen von 14,6 Gy bis 18,0 Gy nachbestrahlt. Die Resultate dieses Versuches sind in Tab. 3.3.2. wiedergegeben. Die mit 7,5 Gy und 8,2 Gy bestrahlten Knochen weisen im Vergleich zu den nächsthöheren Dosen erstaunlich geringe Zuwachsraten auf. Die Streuung der Resultate innerhalb dieser Gruppen sind ebenfalls sehr hoch. Zwischen 9 Gy und 10 Gy sind die Ergebnisse konstant niedrig und steigen bei 11,5 Gy etwas an. Eine kontinuierlich

anwachsende Dosis-Effekt-Beziehung kann aber erst zwischen 12,5 Gy und 18 Gy beobachtet werden. Die individuellen Schwankungen innerhalb der einzelnen Gruppen sind sehr hoch, was sich in den hohen Standardabweichungen für diese Dosen widerspiegelt. Die Mittelwerte pro Dosis und die Standardabweichungen sind in Abb. 3.3.1. wiedergegeben.

Tab. 3.3.2.: histometrische Ergebnisse der Einzeitbestrahlung mit 14 MeV Neutronen

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
7,5	148	9	R	16,7	30,1	26,1
7,5	148	9	L	20,2		
7,5	149	8	R	69,4		
7,5	149	7	L	14,2		
8,2	146	8	R	39,0	29,0	14,1
8,2	146	9	L	18,9		
8,9	134	9	R	5,2	5,8	2,1
8,9	134	8	L	8,9		
8,9	135	5	R	7,3		
8,9	135	8	L	4,1		
8,9	136	9	R	6,7		
8,9	136	9	L	3,3		
8,9	137	7	R	9,0		
8,9	137	9	L	4,1	6,5	3,8
9,6	138	9	R	5,7		
9,6	139	9	L	8,3		
9,6	140	9	R	11,9		
9,6	140	9	L	3,4		
9,6	141	5	R	8,2		
9,6	141	3	L	2,0		
10,3	144	9	L	4,2	8,3	5,8
10,3	145	7	R	5,9		
10,3	145	6	L	15,1		

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
---------------	-----------------	--------------------	-------	------------------	-----------------	-------------------------

11,5	142	9	L	14,1		
11,5	143	9	R	19,9		
11,5	143	9	L	4,1		
11,5	184	7	R	12,3	9,3	5,8
11,5	184	8	L	4,7		
11,5	185	7	R	6,1		
11,5	185	9	L	5,5		
12,5	190	9	R	7,2		
12,5	190	9	L	9,6		
12,5	191	9	R	3,7		
12,5	191	7	L	7,0	5,8	3,4
12,5	192	9	R	4,8		
12,5	192	9	L	2,2		
12,5	193	9	R	11,4		
12,5	193	8	L	2,6		
13,5	186	5	R	51,6		
13,5	186	9	L	6,8		
13,5	187	9	R	5,3		
13,5	187	7	L	27,0	14,2	15,6
13,5	188	9	R	5,6		
13,5	188	6	L	3,5		
13,5	189	9	R	7,4		
13,5	189	9	L	4,9		
14,6	298	9	R	11,7		
14,6	298	9	L	35,3		
14,6	299	9	R	33,9		
14,6	299	7	L	38,0	28,8	20,6
14,6	300	6	R	15,8		
14,6	300	6	L	8,5		
14,6	301	9	R	19,4		
14,6	301	6	L	71,1		

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
15,75	294	9	R	74,9		
15,75	294	9	L	76,3		
15,75	295	9	R	15,8		
15,75	295	7	L	45,0	42,4	25,2
15,75	296	6	R	22,4		
15,75	296	6	L	14,2		
15,75	297	9	L	51,5		
16,9	290	9	R	8,0		
16,9	290	9	L	22,6		
16,9	291	4	R	82,3		
16,9	291	7	L	75,2	43,0	27,8
16,9	292	6	R	59,0		
16,9	292	6	L	32,5		
16,9	293	9	R	51,4		
16,9	293	9	L	15,7		
18,0	286	9	R	61,9		
18,0	286	9	L	81,0		
18,0	287	9	R	64,2		
18,0	287	7	L	84,9	74,2	14,2
18,0	288	6	R	54,2		
18,0	288	6	L	95,3		
18,0	289	9	R	59,9		
18,0	289	9	L	69,4		

R = rechts L = links

Anzahl Schnitte = Anzahl der pro Knochen ausgewerteten Schnitte

Prozent offen = Anteil in Prozent des nicht knöchern

verschlossenen Bohrlochvolumens.

Varianz: $s^2 = (N-1)^{-1} \cdot \text{Sum}(X_i - \text{Mw})^2$

wobei N = Anzahl Ergebnisse, Sum = Summe, Mw = Mittelwert;

Standardabweichung = s.

3.3.3. SIN-Villigen

Zur Bestrahlung mit den am Schweizer Institut für Nuklearforschung produzierten Pi-Mesonen wurden 50 Tiere mit Dosen von 10-22 Gy bestrahlt. Die histometrischen Ergebnisse dieses Versuches sind in Tab. 3.3.3. wiedergegeben. Die Resultate zeigen, daß mit zunehmender Dosis der nicht knöchern verschlossene Anteil des Bohrloches ebenfalls zunimmt. Zwischen 10 Gy und 14 Gy ist der gemessene Effekt noch ziemlich konstant und weist nur geringe Schwankungen innerhalb der Gruppe auf. Bei 16 Gy liegt der Mittelwert der Resultate schon deutlich höher als bei den niedrigeren Dosen und die individuellen Unterschiede innerhalb der Gruppe nehmen zu. Diese Tendenz setzt sich bei 18 Gy und 20 Gy weiter fort, wobei das Resultat des Tieres 212 (12% Bohrlochdefekt offen) deutlich von den anderen abweicht (72% Bohrlochdefekt offen im Durchschnitt), was die sehr hohe Standardabweichung für diesen Punkt erklärt. Die Ergebnisse sind in der Abb. 3.3.1 dargestellt.

Tab. 3.3.3.: histometrische Ergebnisse der Einzeitbestrahlung mit Pi-Mesonen

Dosis (Gy)	Tier-nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittelwert	Standardabweichung
10,0	255	6	R	2,9		
10,0	254	8	L	16,5		
10,0	253	6	R	6,4		
10,0	252	7	L	10,2	8,5	4,2
10,0	251	6	R	8,6		
10,0	250	6	L	9,4		
10,0	249	7	R	11,2		
10,0	248	6	L	6,6		
12,0	245	7	R	8,4	10,5	3,5
12,0	240	8	L	13,1		

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
14,0	239	9	R	12,7		
14,0	238	5	L	6,8		
14,0	237	9	R	11,9		
14,0	236	7	L	9,1	9,8	2,8
14,0	234	8	L	5,4		
14,0	233	7	R	9,6		
14,0	232	4	L	17,5		
16,0	231	7	R	16,8		
16,0	230	5	L	15,7		
16,0	229	9	R	36,1		
16,0	228	7	L	18,0	23,3	14,8
16,0	227	6	R	12,3		
16,0	226	6	L	51,7		
16,0	225	9	R	15,6		
18,0	223	3	R	75,7		
18,0	222	9	L	50,8		
18,0	221	9	R	61,9		
18,0	220	7	L	45,1	51,4	13,3
18,0	219	8	R	54,4		
18,0	218	7	L	40,6		
18,0	216	7	L	35,5		
20,0	215	7	R	95,8		
20,0	214	5	L	77,7		
20,0	213	9	R	75,1		
20,0	212	7	L	12,0	72,6	27,3
20,0	211	4	R	89,3		
20,0	210	6	L	77,7		
20,0	209	9	R	83,6		
22,0	203	7	L	85,4	83,0	2,0
22,0	201	8	R	81,1		

R = rechts L = links

Anzahl Schnitte = Anzahl der pro Knochen ausgewerteten Schnitte

Prozent offen = Anteil in Prozent des nicht knöchern
verschlossenen Bohrlochvolumens.

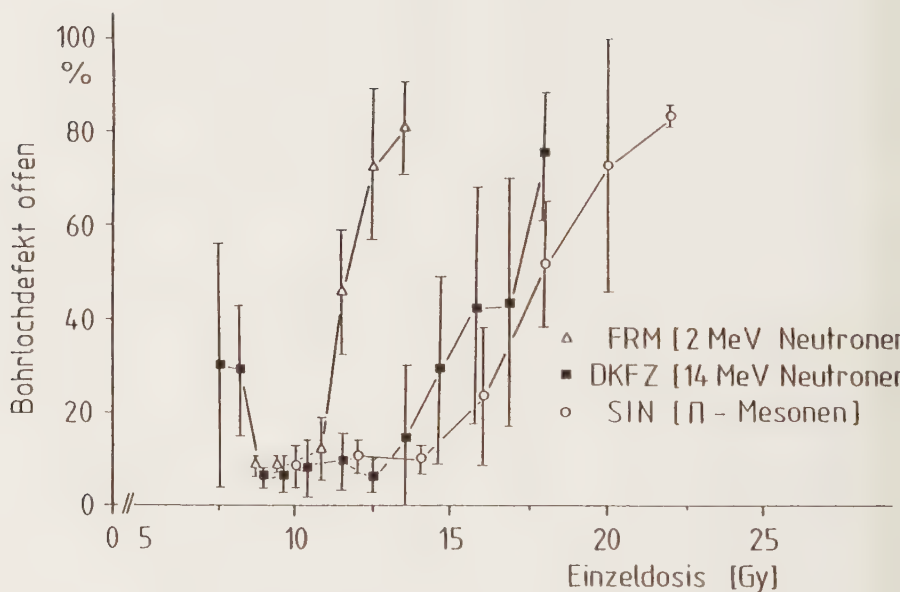


Abb. 3.3.1.: Dosiseffektcurven der Einzelbestrahlung mit verschiedenen Strahlenarten. Für die einzelnen Dosen wurden die Mittelwerte und die Standardabweichungen der -prozentual ausgedrückten- nicht knöchern verschlossenen Anteile am Gesamtvolumen des Bohrloches dargestellt.

3.3.4. Quantale Analyse der Ergebnisse

Die zur Probit-Analyse benutzten quantalen Ergebnisse sind in der Tab. 3.3.4. wiedergegeben. Als Kriterium für einen positiven Probanden wird hierbei ein nicht knöchern verschlossenes Residualvolumen von mindestens 50% gewählt, da für dieses Niveau der 95%-Vertrauensbereich der ED50 bei allen 4 Kurven eine sehr kleine Spanne aufweist und sich die Mittelwerte der Kurven nur sehr wenig von den Mittelwerten der Abb. 3.3.1. unterscheiden. Die in der Abb. 3.3.2. dargestellten sigmoiden Kurven zeigen für die 2 MeV Neutronen einen extrem steilen Verlauf. Die 14 MeV Neutronen- und die Pi-Mesonen-Kurven verlaufen etwas flacher, während die Vergleichskurve mit 320 kV Röntgenstrahlen noch flacher liegt. Die relative biologische Wirksamkeit (RBW) der verschiedenen Strahlenarten ergibt sich aus dem Verhältnis der Energiedosen, die nötig sind, um einen gleichen biologischen Effekt, also das gleiche Häufigkeitsniveau, zu erzielen. Die höchste biologische Wirksamkeit der untersuchten Strahlen besitzen die 2 MeV Neutronen ($ED_{50} = 11,6 \text{ Gy}$). Bei niedrigen Dosen sind die Röntgenstrahlen ($ED_{50} = 16,2 \text{ Gy}$) etwas wirksamer als die 14 MeV Neutronen ($ED_{50} = 16,1 \text{ Gy}$), bei hohen Dosen ist dies umgekehrt. Der Schnittpunkt der beiden Kurven liegt bei $15,9 \text{ Gy}$ (45 % Effekt). Die niedrigste biologische Wirksamkeit weisen die Pi-Mesonen auf ($ED_{50} = 18,1 \text{ Gy}$). In der Tab. 3.3.5. sind die anhand der Probit-Daten berechneten RBW-Werte für die unterschiedlichen Effektbereiche aufgezeichnet. Aufgrund der vergleichsweisen starken Neigung der Röntgenkurve nehmen die RBW-Werte mit steigendem Isoeffektwert kontinuierlich zu.

Tab. 3.3.4.: quantale Ergebnisse

Strahlen- art	Dosis	Anzahl Knochen	Anzahl >50%	%
RENT I	10,8	5	0	0
2 MeV Neutr.	11,5	8	4	50
	12,5	7	6	86
	13,5	8	8	100
DKFZ	12,5	8	0	0
14 MeV Neutr.	13,5	8	1	12
	14,6	8	1	12
	15,7	7	3	42
	16,9	8	4	50
	18,0	8	8	100
SIN	14,0	7	0	0
Pi-Mesonen	16,0	7	1	14
	18,0	7	4	57
	20,0	7	6	86
	22,0	2	2	100

Anzahl Knochen (A) = Anzahl der ausgewerteten Knochen pro Dosisgruppe

Anzahl >50% (B) = Anzahl der Knochen, bei denen mehr als die Hälfte des Borlochvolumens nicht knöchern verschlossen ist.

% = prozentualer Anteil von B an A.

Tab. 3.3.5.: RBW-Berechnung für verschiedene Effektbereiche

%	2 MeV	14 MeV	Pi-Mesonen (SIN)
	Neutronen (FRM)	Neutronen (DKFZ)	
10	1,24	0,93	0,83
20	1,30	0,96	0,85
30	1,34	0,98	0,87
40	1,37	0,99	0,88
50	1,40	1,01	0,89
60	1,42	1,02	0,91
70	1,45	1,03	0,92
80	1,51	1,05	0,93
90	1,55	1,07	0,95

$RBW = D_{RS} / D_F = \text{Energiedosis der Röntgenstrahlung} / \text{Energiedosis der zu untersuchenden Strahlung}$

% = Isoeffektprozentsatz, für den die RBW berechnet wurde.

Wahrscheinlichkeit $\geq 50\%$ Bohrlochdefekt offen

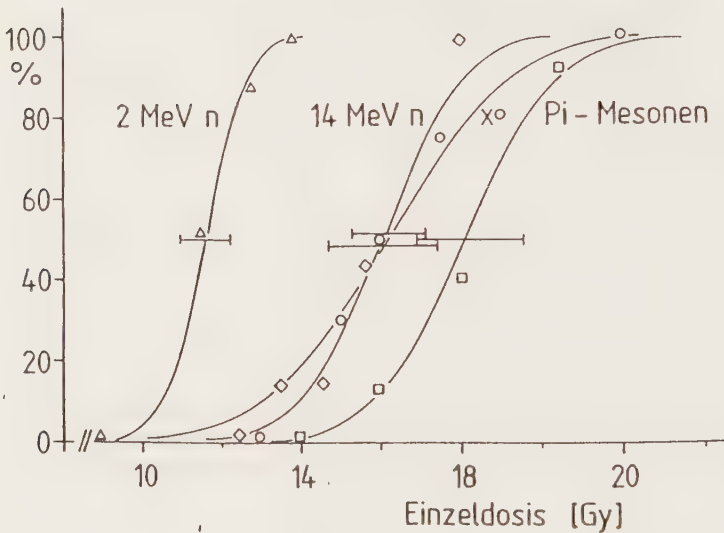


Abb. 3.3.2.: Einzeitbestrahlung mit verschiedenen Strahlenarten.
 Quantale Darstellung der Ergebnisse:
 2 MeV n = RENT I Strahl, Forschungsreaktor
 München-Garching
 14 MeV n = Neutronen, Ringgenerator (KARIN),
 DKFZ Heidelberg
 X = 320 kV Röntgenstrahlen
 Die eingezeichneten Balken bei 50% geben den 95%-
 Vertrauensbereich der ED50 wieder.

3.4. Fraktionierte Röntgenbestrahlung mit unvollständiger Erholung

3.4.1. Histometrische Darstellung der Resultate

Um die Kinetik der Erholung vom subletalen Strahlenschaden zu untersuchen, wurde ein 4-Fraktionen-Experiment mit unterschiedlichen Intervallen zwischen den Bestrahlungseinheiten gewählt. Beruhend auf einer tentativen Halbwertszeit von einer Stunde lagen die gewählten Zeitabstände bei 1, 2, 4 und 12 Stunden. Pro Intervall wurden 4 Dosisgruppen zu je 5 Tieren bestrahlt. Der operative Eingriff erfolgte jeweils 24 Stunden nach der letzten Bestrahlung.

Die Ergebnisse der histometrischen Auswertung, die in Tab. 3.4.1. wiedergegeben sind, zeigen, daß bei einer Gesamtdosis von 18 Gy bereits ein Viertel des Bohrloches nicht mehr knöchern zuwächst. Die Standardabweichung für diesen Mittelwert ist sehr groß, was darauf hindeutet, daß sich dieser Punkt nicht mehr auf dem flachen Anstiegsteil der Dosis-Effekt-Beziehung befindet. Mit zunehmender Dosis nimmt der knöchern verschlossene Anteil am Bohrloch kontinuierlich ab und erreicht bei Werten von 24 Gy ein Minimum. Dies äußert sich auch in der geringen Fluktuation der Resultate Abb. 3.4.1.

Tab. 3.4.1.: histometrische Ergebnisse der fraktionierten
Bestrahlung mit einer Stunde Intervall

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
18,0	56	6	R	12,5		
18,0	56	7	L	49,7		
18,0	57	6	R	42,0		
18,0	57	7	L	30,1	26,5	18,0
18,0	58	7	L	45,4		
18,0	58	6	R	3,7		
18,0	59	7	L	18,1		
18,0	59	6	R	13,7		
20,9	76	7	L	67,0		
20,9	77	6	R	63,4		
20,9	77	6	L	72,6		
20,9	78	6	R	49,9		
20,9	78	8	L	60,8	71,0	14,7
20,9	79	6	R	82,2		
20,9	79	6	L	66,5		
20,9	80	7	R	90,1		
20,9	80	6	L	90,7		
24,0	81	9	R	96,2		
24,0	81	5	L	92,8		
24,0	83	9	R	92,5		
24,0	84	9	L	93,8	94,6	2,3
24,0	85	7	R	95,0		
24,0	85	8	L	98,2		
24,0	86	7	R	94,3		
26,9	87	6	R	99,4		
26,9	88	6	L	98,6	98,7	1,0
26,9	89	6	L	99,6		

R = rechts L = links

Anzahl Schnitte = Anzahl der pro Knochen ausgewerteten Schnitte
Prozent offen = Anteil in Prozent des nicht knöchern
verschlossenen Bohrlochvolumens.

Die Tab. 3.4.2. zeigt für das 2-Stunden-Intervall selbst bei der niedrigsten Dosis sehr hohe Effekte. Zwar nehmen die Mittelwerte der Ergebnisse mit steigender Dosis noch kontinuierlich zu, doch wurden insgesamt gesehen die für dieses Experiment gewählten Dosen etwas zu hoch angesetzt. Die Standardabweichung des Mittelwertes bei 20,5 Gy liegt ebenfalls sehr hoch und spiegelt die extremen individuellen Schwankungen (3-82%) innerhalb der Dosisgruppe wieder. Für die drei übrigen Gruppen sind die individuellen Unterschiede innerhalb der Gruppe nicht so ausgeprägt und die Standardabweichungen nehmen mit steigender Dosis ab. Eine Sättigung des Effektes scheint etwa bei 27 Gy erreicht zu sein.

Tab. 3.4.2.: histometrische Ergebnisse der fraktionierten
Bestrahlung mit zwei Stunden Intervall

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
20,5	46	6	R	3,4		
20,5	46	6	L	16,6		
20,5	48	8	L	48,8		
20,5	50	6	R	58,9		
20,5	50	7	L	48,0	50,9	26,8
20,5	62	6	R	81,2		
20,5	62	6	L	59,5		
20,5	63	7	R	64,1		
20,5	63	6	L	81,7		

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
---------------	-----------------	--------------------	-------	------------------	-----------------	-------------------------

24,0	51	9	R	64,2		
24,0	51	5	L	79,8		
24,0	53	9	R	81,5		
24,0	54	5	R	90,8		
24,0	54	9	L	76,8	82,1	9,7
24,0	55	7	R	94,0		
24,0	55	8	L	94,2		
24,0	64	7	R	77,3		
24,0	64	4	L	84,6		
27,5	65	6	R	82,4		
27,5	65	6	L	98,8		
27,5	66	8	R	98,1		
27,5	66	6	L	98,6	90,2	8,6
27,5	67	7	R	78,3		
27,5	67	6	L	83,7		
27,5	68	6	R	87,4		
27,5	69	7	R	98,9		
30,9	70	7	R	85,2		
30,9	70	5	L	85,6		
30,9	71	9	R	98,8		
30,9	71	7	L	90,9		
30,9	72	7	R	99,3		
30,9	72	5	L	95,5	93,7	5,1
30,9	73	9	R	95,2		
30,9	73	7	L	99,5		
30,9	74	4	R	93,8		
30,9	75	6	R	97,0		
30,9	75	9	L	95,8		

R = rechts L = links

Anzahl Schnitte = Anzahl der pro Knochen ausgewerteten Schnitte
 Prozent offen = Anteil in Prozent des nicht knöchernen
 verschlossenen Bohrlochvolumens.

Varianz: $s^2 = (N-1)^{-1} \cdot \text{Sum}(X_i - \text{Mw})^2$

wobei N = Anzahl Ergebnisse, Sum = Summe, Mw = Mittelwert;
 Standardabweichung = s.

Wie aus den Ergebnissen der Tab. 3.4.3 hervorgeht, ist die Überdosierung, die sich in den 1- und 2-Stunden-Experimenten bereits andeutete, für das 4-Stunden-Experiment besonders deutlich. Bereits in der niedrigsten Dosisgruppe liegt der Mittelwert der Resultate bei 77%. Für die nächsthöhere Dosis sinkt dieser Wert zwar um 5%, jedoch ist die Standardabweichung sehr hoch. Bei 30 Gy scheint der maximale Effekt erreicht zu sein und die individuellen Schwankungen innerhalb der Gruppe sind sehr gering. In der höchsten Dosisgruppe liegen die Resultate sehr konstant zwischen 90% und 98% des Bohrloches nicht knöchern verschlossen. Die Abb. 3.4.1 zeigt die Mittelwerte der in Tab. 3.4.3. dargestellten Ergebnisse mit den dazugehörigen Standardabweichungen. Während nach 1 Stunde und nach 12 Stunden die nahezu komplette Dosis-Effekt-Beziehung sichtbar wird, deutet sich für die 2-Stunden-Intervall-Kurve die angesprochene Überdosierung bereits an und wird nach 4 Stunden besonders deutlich. Hinzu kommt, daß der Effekt nach 22,4 Gy für das 4-Stunden-Intervall viel höher liegt als nach dem übrigen Verlauf der Kurve zu erwarten wäre. Selbst nach zwei Stunden Intervall liegt der für diese Dosis extrapolierte Wert unter dem erzielten Ergebnis nach vier Stunden.

Tab. 3.4.3.: histometrische Ergebnisse der fraktionierten
Bestrahlung mit vier Stunden Intervall

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
22,4	152	9	R	69,5	77,6	9,4
22,4	152	9	L	90,7		
22,4	153	5	R	71,2		
22,4	153	9	L	88,3		
22,4	154	7	L	70,9		
26,2	155	9	R	56,1	72,1	27,0
26,2	155	9	L	15,0		
26,2	156	6	R	93,2		
26,2	157	7	R	79,9		
26,2	157	8	L	89,3		
26,2	158	9	R	95,5		
26,2	158	9	L	63,1		
26,2	159	5	L	87,6		
30,0	160	9	L	98,7	88,8	5,0
30,0	161	9	R	92,7		
30,0	161	9	L	87,8		
30,0	162	7	R	77,2		
30,0	162	9	L	86,0		
30,0	163	9	R	91,1		
30,0	164	3	R	91,3		
33,9	165	5	L	94,4	92,7	2,6
33,9	166	7	R	96,5		
33,9	166	9	L	95,1		
33,9	167	6	R	93,1		
33,9	168	6	R	97,9		
33,9	168	6	L	90,0		
33,9	169	9	R	94,1		

R = rechts L = links

Anzahl Schnitte = Anzahl der pro Knochen ausgewerteten Schnitte

Prozent offen = Anteil in Prozent des nicht knöchern
verschlossenen Bohrlochvolumens.

Wie aus der Tab. 3.4.4. ersichtlich wird, zeigen die Ergebnisse für dieses Intervall einen minimalen Effekt bei der niedrigsten Dosis, einen deutlichen Anstieg für die beiden nächsthöheren Dosen und ein Maximum für den höchsten Dosiswert. Die individuellen Schwankungen sind sowohl bei 22,9 Gy als auch bei 34,8 Gy sehr klein, was darauf hindeutet, daß sich eine dosisabhängige Unterdrückung der Defektheilung vollständig zwischen diesen beiden Werten abspielt. Dies wird auch aus den Mittelwerten der beiden mittleren Dosen ersichtlich, die bei 50% bzw. 80% des maximal erreichbaren Effektes liegen. Die individuellen Schwankungen innerhalb dieser Dosisgruppen sind jeweils sehr hoch, was darauf hindeutet, daß der kritische Dosisbereich erreicht ist. Die Mittelwerte der Effekte der einzelnen Dosen und die Standardabweichungen sind in der Abb. 3.4.1. wiedergegeben.

Tab. 3.4.4.: histometrische Ergebnisse der fraktionierten Bestrahlung mit zwölf Stunden Intervall

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
22,9	114	9	L	16,0		
22,9	115	8	R	11,4		
22,9	115	9	L	4,6		
22,9	116	9	R	7,9	10,0	5,0
22,9	116	9	L	14,8		
22,9	117	6	L	4,0		
22,9	118	7	L	14,4		

Dosis (Gy)	Tier- nummer	Anzahl Schnitte	Seite	Prozent offen	Mittel- wert	Standard- abweichung
---------------	-----------------	--------------------	-------	------------------	-----------------	-------------------------

26,9	119	10	L	5,6		
26,9	120	9	R	35,9		
26,9	120	8	L	58,8		
26,9	121	9	R	60,2	50,2	23,7
26,9	121	5	L	73,5		
26,9	122	7	L	71,1		
26,9	123	9	L	50,7		
30,9	124	3	R	94,4		
30,9	125	9	R	86,6		
30,9	125	9	L	63,4	79,5	13,6
30,9	127	7	R	62,6		
30,9	128	8	R	86,4		
30,9	128	6	L	87,6		
34,8	129	9	R	95,5		
34,8	129	9	L	86,9		
34,8	130	9	R	93,0		
34,8	130	5	L	96,7		
34,8	131	9	R	97,0	94,0	4,2
34,8	131	8	L	90,2		
34,8	132	7	R	98,3		
34,8	132	6	L	97,6		
34,8	133	9	R	98,1		
34,8	133	8	L	88,7		

R = rechts L = links

Anzahl Schnitte = Anzahl der pro Knochen ausgewerteten Schnitte
 Prozent offen = Anteil in Prozent des nicht knöchern
 verschlossenen Bohrlochvolumens.

Varianz: $s^2 = (N-1)^{-1} \cdot \text{Sum}(X_i - Mw)^2$

wobei N = Anzahl Ergebnisse, Sum = Summe, Mw = Mittelwert;
 Standardabweichung = s.

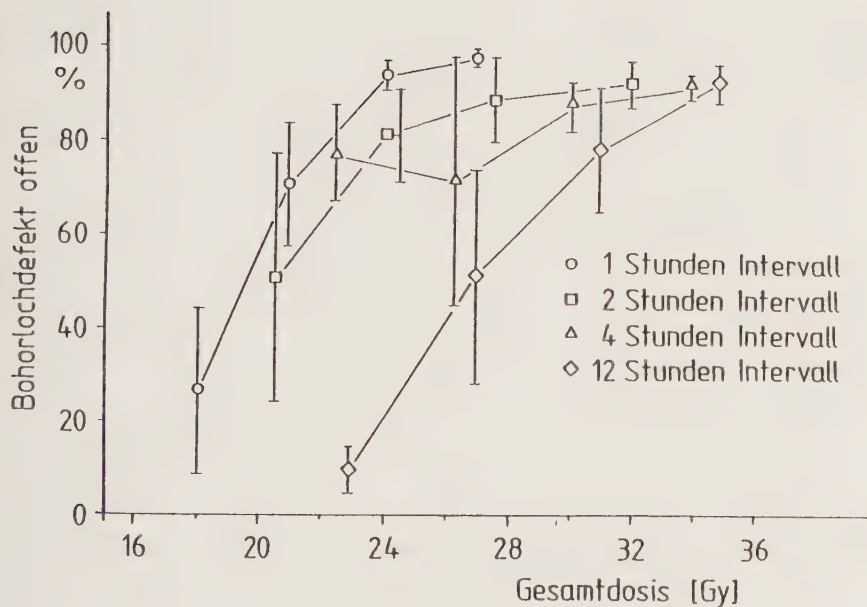


Abb. 3.4.1.: 4-Fraktionen-Experiment mit unterschiedlichen Erholungszeiten zwischen den Bestrahlungen. Die dargestellten Ergebnisse beziehen sich auf die Mittelwerte pro Dosis sowie deren Standardabweichung.

3.4.2. Quantale Analyse der Ergebnisse

Die in der Abb. 3.4.2. dargestellten sigmoiden Kurven beruhen auf einer quantalen Analyse der Resultate, deren Ergebnisse in der nachfolgenden Tabelle wiedergegeben sind. Da für die Intervalle 2 Stunden und vor allem 4 Stunden eine Überdosierung vorliegt, ist es sinnvoll, nur jene Effekte miteinander zu vergleichen, für die bei allen 4 Intervallen Resultate vorliegen. Die Wahl des Effektleveles für die Probit-Analyse fiel somit auf 80% des Bohrloches nicht knöchern verschlossen. Da für die 2- und 4-Stunden-Intervalle kein sehr niedriger Wert vorlag, wurde als unterster Wert für die Probit-Analyse jeweils eine Gesamtdosis von 18 Gy angegeben. Dies entspricht dem unteren Wert für das 1-Stunde-Intervall. Da es unwahrscheinlich ist, daß in 2 bzw. 4 Stunden weniger von dem gesetzten subletalen Strahlenschaden erholt werden kann als in einer Stunde, erscheint diese Annäherung erlaubt. Für das 4-Stunden-Intervall wurde die Dosisgruppe 22,4 Gy nicht berücksichtigt, da die erstellte Dosis-Effekt-Kurve mit diesem Punkt sehr flach verläuft (15-35 Gy), ohne den Punkt aber fast parallel (18-33 Gy) zur 2-Stunden-Kurve liegt. Die in Abb. 3.4.2. dargestellten Kurven zeigen die Ergebnisse der Probit-Analyse für die verschiedenen Fraktionierungsintervalle sowie der Einzelbestrahlung für einen Effektlevele von 80%. Die eingezeichneten Balken bei der ED50 geben jeweils den 95%-Vertrauensbereich wieder. Die ED50 zeigt jene Dosis an, für die 50% der Bohrlöcher zu mindestens 80% als unverschlossen zu erwarten sind. Sie liegt für die Einzeitbestrahlung bei 17,4 Gy und für die Fraktionierungsexperimente bei 21,3 Gy (1 Stunde), 23,4 Gy (2 Stunden), 26,1 Gy (4 Stunden) und 30,1 Gy (12 Stunden). Es zeigt sich also, daß -wie erwartet- mit zunehmender Erholungszeit zwischen den Fraktionen die isoeffektive Gesamtdosis steigt.

Tab. 3.4.5.: Quantale Ergebnisse

Intervall	Dosis	Anzahl Knochen	Anzahl >80%	%
1 Stunde	18,0	8	0	0
	20,9	9	3	33
	24,0	7	7	100
	26,9	3	3	100
2 Stunden	20,5	9	22	22
	24,0	9	5	55
	27,5	8	7	87
	31,9	11	11	100
4 Stunden	26,2	8	4	50
	30,0	7	6	86
	33,9	7	7	100
	37,8	7	7	100
12 Stunden	22,9	7	0	0
	26,9	7	0	0
	30,9	6	4	67
	34,8	10	10	100

Anzahl Knochen (A) = Anzahl der ausgewerteten Knochen pro Dosisgruppe

Anzahl >70% (B) = Anzahl der Knochen, bei denen mehr als 70% des Borlochvolumens nicht knöchern verschlossen ist.

% = prozentualer Anteil von B an A.

Wahrscheinlichkeit $\geq 80\%$ Bohrlochdefekt offen

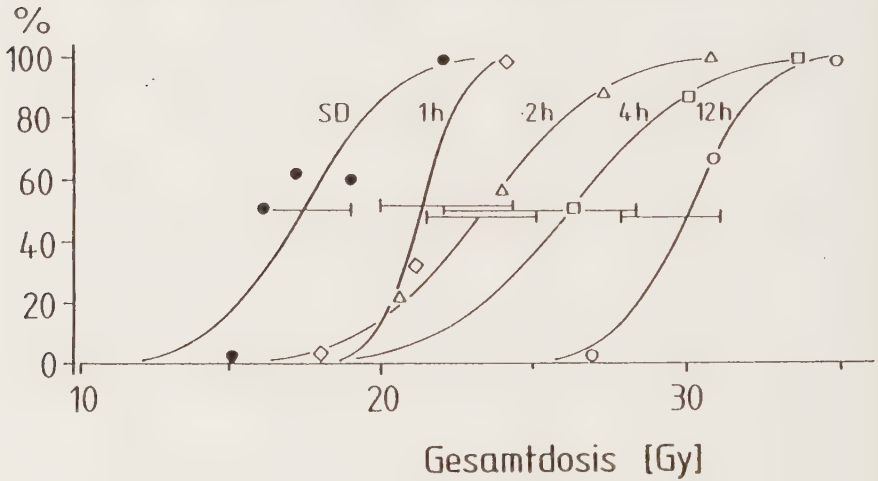


Abb. 3.4.2.: Quantale Darstellung der 4-Fraktionen-Experimente mit unterschiedlichen Erholungszeiten zwischen den Bestrahlungen. Die eingezeichneten Balken geben den 95%-Vertrauensbereich der ED50 wieder.

4. Diskussion

4.1. Methode

Das besondere Interesse am Studium der Strahlenschäden von Bindegeweben und Blutgefäßen beruht auf der Feststellung, daß viele Komplikationen in der Radiotherapie auf Verletzungen dieser Gewebe zurückzuführen sind. Während der akute Strahlenschaden vor allem infolge epithelialer Reaktionen entsteht, beruht der späte Strahlenschaden mehr auf Veränderungen der Blutgefäße und des Bindegewebes. Da sich diese Zellen im gesunden Gewebe nur selten teilen, wurden verschiedene Methoden zur Erhöhung ihrer Proliferationsrate entwickelt. Wundheilungskurven spielen in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle, darunter auch solche des Knochens.

Hayashi und Suit (1971) führten Versuche zur strahleninduzierten Störung der Kallusbildung an weiblichen Mäusen im Alter von 10-14 Wochen durch. Die Femora wurden 24 Stunden nach Röntgenbestrahlung frakturiert und anschließend der maximale Kallusumfang röntgenologisch gemessen. Als Vergleich nahm man die Kallusbildung bei unbestrahlten Tieren am 16. und 23. Tag nach der Frakturierung. Der benutzte Parameter war die CID_{50} (callus inhibiting dose), in diesem Fall definiert als die Dosis, bei der für mehr als die Hälfte der Tiere der gemessene Kallusumfang kleiner als 30% des Kallusumfangs der Vergleichstiere zum gleichen Zeitpunkt war. Die so ermittelte CID_{50} für eine Einzeildosis lag bei 17,5 Gy und für 2- 5- und 10-Fractionen-Experimente bei 22,7 Gy, 30,2 Gy und 36,0 Gy.

Albrektsson et al. (1980) wollte vor allem den Anteil von Blutgefäßschäden am Entstehen der Osteoradionekrose messen. Hierfür entwickelte er eine sogenannte Knochenkammer, bestehend aus einer Titanschraube, in deren Längsachse zwei Glasstäbe gelötet

wurden. Zwischen diesen Stäben blieb ein 0,1 mm breiter Spalt, in den Blutgefäß- und Knochengewebe während der 4- bis 6-wöchigen Heilphase einwachsen konnte. Die Schraube wurde operativ in die Tibien von 10-16 Monate alten Kaninchen implantiert, sodaß der freie Spalt in der Kompakta des Knochens zu liegen kam und die Enden aus dem Knochen herausragten. Mit Hilfe eines Intra-vitalmikroskopes konnte vor und zu verschiedenen Zeiten nach der Bestrahlung mit Co-Strahlen (15 Gy Einzeitdosis) die Einsprossung des neugebildeten Gewebes am narkotisierten Tier beobachtet und photographisch festgehalten werden. Die Ergebnisse zeigten, daß nach einigen Wochen neugebildeter Knochen in der Knochenkammer vorhanden war, und die histologische Auswertung ließ keine Anzeichen einer Störung der Gefäßbildung erkennen. Eine quantitative Auswertung der Resultate wurde nicht durchgeführt.

Beruhend auf der Technik von Albrektsson entwickelten Jacobsson et al. (1985) eine Methode zur quantitativen Analyse der Knochenheilung am erwachsenen Kaninchen. Sie bedienten sich ebenfalls einer Titanschraube, die aber zwei Bohrungen von einem Millimeter Durchmesser in der Querachse aufwies. Diese Schraube hatte einen Durchmesser von 7 mm und wurde in die Kortikalis eines Röhrenknochens eingebracht. Während einer mehrwöchigen Heilphase wuchs neugebildeter Knochen in die Bohrungen der Titanschraube ein. Nach der Entfernung der Implantate erfolgte die mikroradiographische Bestimmung des knöchernen Anteils am eingewachsenen Gewebe. Durch den Vergleich von bestrahlten mit unbestrahlten Knochen konnte eine Dosis-Effekt-Beziehung erstellt werden mit einem Mittelwert von 10-11 Gy für die Unterdrückung der knöchernen Heilung.

Seit 1982 wurden in der Abteilung Strahlenbiologie der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung Neuherberg in Zusammenarbeit mit zahlreichen Instituten klinische und biologische Fragestellungen der Knochenheilung und ihre strahlenbedingte

Beeinflussung am Modell des standardisierten Bohrlochdefektes bearbeitet und ständig verbessert. Nachdem Kummermehr et al. (1982), beim Beagle noch fünf Bohrlöcher in einen Knochen setzten, zeigten die ersten Resultate von Arnold et al. (1983), daß selbst zwei Bohrlöcher in einem Knochen sich gegenseitig beeinflussen. Daraufhin wurden in jeden Knochen nur noch ein Bohrloch gesetzt und gleichzeitig seine Lokalisation vereinheitlicht. Anschließend untersuchte Arnold et al. (1983) die Wirkung von 320 kV Röntgenstrahlung auf die knöcherne Heilung und erstellte neben einer Einzeitkurve ($ED_{50} = 16,1 \text{ Gy}$) verschiedene andere Dosis-Effekt-Kurven, die den zeitlichen Verlauf der Knochenneubildung und sein Fraktionierungsverhalten wiedergeben.

Sowohl die von Albrektsson et al. (1980) als auch die von Hayashi und Suit (1971) entwickelten Methoden zur Quantifizierung der Phenomene, die sich bei der knöchernen Heilung nach lokaler Bestrahlung abspielen, arbeiten mit direkt am lebenden Tier meßbaren Veränderungen. Dies hat den Vorteil, daß der zeitliche Ablauf der Veränderungen durch wiederholte Messungen am gleichen Tier verfolgt werden kann. Das System des standardisierten Bohrlochdefektes hingegen benutzt einen indirekten, einmalig für jedes Tier messbaren Parameter und erfordert somit großangelegte Versuche mit hohen Tierzahlen, wenn man den zeitlichen Verlauf des Geschehens verfolgen will. Diesen Nachteil besitzt ebenfalls die nach Jacobsson modifizierte Methode der Knochenskammer. Ein anderer Vorteil der Methode von Albrektsson liegt in der qualitativen Aussagekraft der Untersuchungen; sie ermöglicht es, den Auf- und Umbau des Knochens an einem Tier mikroskopisch zu verfolgen. Seine Methode erlaubt jedoch keine quantitative Aussage, was Jacobsson veranlaßte, das System zu verändern. Vom Arbeits- und Materialaufwand her ist der von Hayashi durchgeführte Versuch sicherlich der einfachste, doch die Reproduzierbarkeit des gesetzten Traumas ist nicht gesichert und die schmerzhaft Frakturierung der Femora, die zur Vermin-

derung der Beweglichkeit des Tieres führt, ist aus tierschützerischen Gründen nicht zu vertreten. Vergleicht man das Modell des standardisierten Bohrlochdefektes mit der Knochenkammer von Jacobsson, dann liegt ein Vorteil der Knochenkammer in der rationalen Auswertung, ein Nachteil in der Tatsache, daß nur vor der Implantation der Titanschraube bestrahlt werden kann, da ansonsten die Wechselwirkung des therapeutischen Strahls mit dem Metall zu schwer überschaubaren lokalen Dosisinhomogenitäten führt. Die vorliegenden Ergebnisse deuten darauf hin, daß die mit dem Modell des standardisierten Bohrlochdefektes erzielten Resultate umfassender sind. Die Tatsache, daß volle Dosis-Effekt-Kurven in diesem System mit weniger Anspruch zu generieren sind, macht den Einsatz dieser Methode für weitere Versuche interessant.

Schlußfolgernd kann man sagen, daß von den vier vorgestellten Methoden drei eine quantitative Wiedergabe der Strahlenempfindlichkeit der knöchernen Heilung ermöglichen, aber nur zwei Modelle besitzen eine standardisierte und reproduzierbare Versuchsanordnung. Die Methode des standardisierten Bohrlochdefektes scheint aufgrund der Fülle der vorliegenden Resultate für weitere strahlenbiologische Untersuchungen am geeignetsten zu sein. Allerdings kann das System in einigen Details noch verbessert werden.

Die ersten von Arnold (1984) erstellten Daten deuteten darauf hin, daß 7 Wochen nach der Operation die Knochenheilung vollständig abgeschlossen sei. Spätere Auswertungen hingegen zeigten, daß nach 7 Wochen zwar ein Maximum des knöchernen Zuwachses erreicht wird, daß aber anschließend der Anteil des knöchernen verschlossenen Volumens wieder etwas geringer wird, um nach ca. 10 bis 12 Wochen wieder anzusteigen und dann ein Plateau zu erreichen. Aufgrund dieses Resultates sollten nur Ergebnisse mit identischer Heildauer miteinander verglichen wer-

den. Auch kann überlegt werden, ob für weitere Experimente die Wahl einer längeren Heildauer sinnvoll ist.

Aufgrund der neuen Anforderungen, die durch den Einsatz anderer Strahlenquellen und neuer Bestrahlungsanordnungen an das System gestellt wurden, mußten angepasste Techniken und Methoden entwickelt werden. So erforderte die Untersuchung der strahlenbiologischen Eigenschaften von Neutronen und Pi-Mesonen die Anfertigung spezieller Halterungen, die den jeweiligen physikalischen Voraussetzungen entsprachen. Eine weitere Schwierigkeit lag in der schmerzfreien Immobilisierung der Tiere über längere Zeit hinweg. Durch die Anwendung der Inhalationsnarkose gelang es selbst komplizierte Bestrahlungsschemata zu verwirklichen (4 Fraktionen in 3 Stunden, Bestrahlungszeiten von 3 Stunden).

Ein wesentlicher Nachteil der Methode liegt in der umständlichen und zeitaufwendigen histologischen Aufarbeitung. Zwar konnte durch den Gebrauch des Zeichenmikroskopes das kostspielige Ablichten und mühevollen Auswerten der photographischen Aufnahmen umgangen werden (Arnold, 1984), doch bleiben das Einbetten in Acrylat, das Anfertigen und Färben der histologischen Schnitte sowie das Umrechnen und Eingeben der Daten vom halbautomatischen Analysegerät in das SAS-System des Rechenzentrums sehr arbeitsintensiv.

4.2. Physiologie der Knochenheilung

In dem durch das Setzen des Bohrloches traumatisierten Knochen bildet sich sofort ein Hämatom, das durchaus einem Frakturhämatom gleichzusetzen ist. Bald darauf finden die Regenerationsvorgänge der sekundären Knochenheilung statt: Ein extrem zellreiches Granulationsgewebe mesenchymalen Ursprungs formiert sich in der Peripherie des koagulierten Blutpfropfens und resorbiert bzw. organisiert diesen nach und nach. Die Kapillaren des neugebildeten Gewebes sprossen entlang der Fibrinfäden des Hämatoms in das Detritusgewebe ein. Die Bildung des Granulationsgewebes kann sowohl vom Endost, vom Periost, von den Havers'schen Kanälen als auch von paraossalen Geweben ausgehen. Bei den Nagern spielt das rote Knochenmark, das im Gegensatz zum Menschen auch beim adulten Tier in den langen Röhrenknochen vorhanden ist, ebenfalls eine Rolle. Bereits fünf Tage nach dem Setzen des Defektes können die aus mesenchymalen Vorläuferzellen hervorgehenden Osteoblasten die ersten Knochenbälkchen bilden. In diesem Zusammenhang spricht man von einer primär angiogenen Kallusbildung, da es im Bohrloch wegen ausbleibender Druck- und Zugkräfte nicht zur Entstehung von kollagenem Fasergewebe kommt (Bourne, 1971, Revell, 1986, Sandersleben et al., 1985, Schebitz und Brass, 1975).

Die Untersuchung unbestrahlter Tiere nach der Operation zeigt, daß nach vier Tagen sich bereits das zellreiche Granulationsgewebe im Bohrloch installiert hat, und daß seine Kapillaren in das Hämatom einsprossen. 7 Tage nach der Operation kann neugebildeter Knochen beobachtet werden, doch erst nach 2 Wochen sind etwa 40 Prozent des Bohrloches mit Knochen aufgefüllt und nach 7 Wochen sind es etwa 80 Prozent.

4.3. Postoperative Einzeitbestrahlung mit steigendem Intervall nach der Operation

4.3.1. Zusammenfassung der eigenen Resultate

Die in der Abb. 3.2.4. dargestellten Resultate zeigen, daß erhebliche Unterschiede in der Hemmbarkeit der Knochenheilung durch Strahlung bestehen, die sich insbesondere auf das Intervall zwischen Operation und nachfolgender Bestrahlung beziehen.

Beträgt das Intervall zwischen der Operation und der Bestrahlung 6 Stunden, dann steigert sich die Strahlenresistenz gegenüber der Einzeitbestrahlung 24 Stunden vor der Operation. Die Dosis-Effekt-Kurve verschiebt sich deutlich nach rechts und der Faktor der beiden 50%-Werte ($F = ED_{50_{6h}}/ED_{50_{24h}}$) liegt bei 1,35.

Wird jedoch ein Tag nach der Operation bestrahlt, dann ist die vorher beschriebene Resistenzbildung nicht mehr messbar und die Knochenheilung verhält sich wie im Falle der Traumatisierung nach der Bestrahlung.

Bereits 4 Tage nach der Operation kann selbst eine Verdopplung der Einzeitdosis den knöchernen Verschluß des Bohrloches nicht mehr bei allen Tieren hemmen. Nur noch in 20-40 Prozent der Fälle kommt es zu einem Verschluß von weniger als 50 Prozent des Bohrloches. Da die Hautreaktionen bei der lokalen Bestrahlung mit 35 Gy schon sehr stark waren, wurde von der Applikation höherer Dosen abgesehen.

Während bei dem 4-Tage-Intervall noch eine gewisse Beeinflussung der knöchernen Heilung durch den Strahleninsult möglich war, konnte dies eine Woche nach der Traumatisierung selbst mit höchsten tolerierten Dosen (37,5 Gy) nicht mehr erreicht werden. Zwar blieb ab und zu das Bohrloch bis zu einem Viertel offen, doch meist wurde der vollständige Verschluß mit neugebil-

detem Knochen - vom Periost bis zum Endost reichend - beobachtet.

Das gleiche Bild fand sich bei den 14 Tage nach der Operation bestrahlten Tieren. Allerdings waren hier die marknahen Gebiete nicht vollständig verschlossen, was sich in dem etwas höher gelegenen Plateaubereich der Dosis-Effekt-Kurve widerspiegelt.

4.3.2. Besprechung der Ergebnisse

Betrachtet man die Resistenzbildung der Knochenheilung im Verhältnis zum Intervall vor der Bestrahlung, dann läßt sich eine anfängliche Resistenzsteigerung beobachten, die nach 6 Stunden deutlich ausgeprägt ist und anschließend wieder abnimmt. Nach 24 Stunden ist das System genauso strahlenempfindlich wie bei der Bestrahlung vor der Operation.

Die pathologisch-histologischen Vorgänge der Wundheilung bieten eine plausible Erklärung für dieses Phänomen. Die Verletzung regt den Körper an, für die Beseitigung des geschädigten Gewebes und seinen Ersatz durch gesundes Gewebe zu sorgen. Die Traumatisierung bewirkt eine Vasokonstriktion im Wundbereich, die nach einigen Minuten in eine Vasodilatation übergeht. Im unmittelbar geschädigten Bereich kommt es zu örtlichen Hämorrhagien und durch die Veränderung der lokalen Druckverhältnisse zur intravasalen Stase. Gleichzeitig erfolgt durch die Aktivierung der Gerinnungsfermente die Einleitung der Blutgerinnung, und die plasmatischen gefäßaktiven Stoffe (Plasmin, Bradykinin, Histamin, u.a.) erhöhen die Kapillardurchlässigkeit. Das so entstehende entzündliche Ödem bewirkt gemeinsam mit der Mangeldurchblutung im Hämorrhagiebereich eine lokale Hypoxie mit erhöhtem CO_2 -Druck und ausgeprägter Azidose (Schebitz und Brass,

1975). Somit ließe sich die größere Strahlenresistenz des traumatisierten Knochens bei Bestrahlung 6 Stunden postoperativ durch eine teilweise Gewebshypoxie erklären. Während man bei vollständiger Hypoxie mit einer Erhöhung der Strahlenresistenz um einen Faktor 2-3 rechnen muß (Hall, 1978), kann man im vorliegenden Fall davon ausgehen, daß der Effekt nur noch teilweise wirksam ist, da der berechnete Dosisquotient der ED50-Werte bei 1,35 liegt.

24 Stunden nach der Traumatisierung haben sich die Durchblutungsverhältnisse im Wundbereich soweit normalisiert, daß die ersten anabolen Prozesse stattfinden können. Die lokale Hypoxie hat sich größtenteils aufgelöst und die protektive Wirkung der niedrigen Sauerstoffkonzentration ist aufgehoben (Schebitz und Brass, 1975). In diesem frühen Stadium der Knochenheilung könnten die Anzahl und die zelluläre Strahlenempfindlichkeit der für die Knochenheilung relevanten Zellen im wesentlichen noch unverändert sein, woraus sich der Befund erklärt, daß die Strahlenresistenz für das 24-Stunden-Intervall gegenüber dem Schema der Vorbestrahlung gleich bleibt.

Bestrahlt man aber 4 Tage nach der Stimulierung der Knochenheilung, so erweist sich die Knochenheilung als schwer hemmbar. Bis zu diesem Zeitpunkt dürften sich so viele neue Osteoblasten am Ort des Geschehens gebildet haben, daß die Genese des neuen Knochens ihren Lauf nehmen kann. Nur bei 9 von 30 bestrahlten Knochen blieb mehr als die Hälfte des Bohrloches offen, trotz Dosen von über 25 Gy. Dies deutet darauf hin, daß die Aktivität oder die Zahl der Osteoblasten bei 25-35 Gy noch nicht wesentlich vermindert wird, daß aber bei manchen Tieren selbst 4 Tage nach der Operation noch nicht genügend Osteoblasten anwesend sind, um den knöchernen Verschluß des Bohrloches innerhalb von sieben Wochen zu gewährleisten. 7-14 Tage nach der Operation ist jedoch bei allen Tieren die Anzahl der bereits anwesenden Osteoblasten ausreichend, so daß die strahlenbedingte Prolife-

rationshemmung keine weiteren Auswirkungen hat, und so kommt es im Verlauf der Heilungszeit zum vollständigen Verschuß des Bohrloches.

Für das Verständnis der zeitabhängigen Strahlenwirkung ist wesentlich, zwischen der Strahlenempfindlichkeit von Stamm- und Vorläuferzellen und Funktionszellen zu unterscheiden. Die Vorläuferzellen der Osteoblasten sind mesenchymalen Ursprungs und können vom Mesenchym des Markraums, vom Endost der Harvers'schen Kanäle, vom Periost und von paraossalen Bindegeweben ausgehen (Sandersleben et al., 1985). Die mesenchymalen Stammzellen teilen sich dabei in Vorläuferzellen, die sich selbst sehr schnell teilen und dabei eine Differenzierung in eine bestimmte Richtung durchlaufen. Am Ende dieser hierarchisch aufgebauten Zelllinie stehen die reifen Zellen mit einem hohen Differenzierungsgrad, die funktionelle Aufgaben wahrnehmen können. Potten et al. (1983) stellen folgende Gesetzmäßigkeit für verschiedene hierarchisch angeordnete Zelllinien fest. Die strahlenempfindlichsten Zellen der Zellhierarchie sind die Stammzellen, mit zunehmender Differenzierung nimmt die Strahlenempfindlichkeit ab. Überträgt man dieses System auf die Knochenheilung, dann würde man von der Vorläuferzelle des Osteoblasten eine deutlich stärkere Strahlenempfindlichkeit erwarten als vom Osteoblasten selbst. Bestrahlt man einen gesunden Knochen, der anschließend traumatisiert und somit zur Knochenheilung stimuliert wird, dann sind die mesenchymalen Stammzellen und die Vorläuferzellen bereits geschädigt, bevor sie zur Proliferation durch das Setzen des Traumas angeregt wurden. Ihre Teilungskapazität ist vermindert und es stehen weniger Zellen zur Ausreifung zu funktionstüchtigen Osteoblasten zur Verfügung. Mit steigender Dosis sind immer weniger Osteoblasten im traumatisierten Gebiet vorhanden und es kommt zu einer dosisabhängigen Unterdrückung der Knochenheilung. Setzt man aber zunächst das Trauma und bestrahlt anschließend den Knochen, dann werden die mesenchymalen Stammzellen und die Vorläuferzellen zuerst zur

Proliferation angeregt und der Reifungsprozess der neugebildeten Zellen zum funktionstüchtigen Osteoblasten wird eingeleitet. Mit zunehmendem Intervall zwischen dem Setzen des Traumas und der Bestrahlung reifen immer mehr neue Zellen heran, die schon bald mit der Produktion neuen Knochengewebes beginnen. Da aber die ausgereiften oder ausreifenden Zellen strahlenresistenter sind als die proliferierenden Vorläuferzellen, wird die erforderliche Dosis zur Unterdrückung der Knochenheilung mit länger werdendem Intervall bis zur Bestrahlung wesentlich größer. Aufgrund dieser Überlegung könnte man folgern, daß bei Bestrahlung einen Tag nach Operation nicht mehr funktionstüchtige Osteoblasten zur Verfügung stehen als bei einer präoperativen Bestrahlung. Vier Tage später hingegen sind bereits eine Reihe ausgereifter Zellen im traumatisierten Gebiet und nach sieben Tagen ist ihre Zahl so groß, daß die Dosen, die zu einem früheren Zeitpunkt die Unterdrückung der Proliferation und Ausreifung der Vorläuferzellen ermöglichten, nun nicht mehr ausreichen, um die Aktivität der ausgereiften Zellen zu unterbinden. Da 24 Stunden nach Operation die mesenchymalen Vorläuferzellen bereits zur aktiven Proliferation stimuliert sind, kann man aus der Gleichheit der ED₅₀ 24 Stunden vor und nach Operation schließen, daß der Proliferationszustand selber (ob G₀ oder im Zyklus) auf die Strahlenempfindlichkeit keinen wesentlichen Einfluß hat. Dies widerspricht einer verbreiteten strahlenbiologischen Lehrmeinung (Hug, 1974).

Vergleicht man nun den Knochenzuwachs von unbestrahlten Knochen 7 Wochen nach der Operation mit den Ergebnissen von 7 Tage postoperativ mit 37,5 Gy bestrahlten Tieren bei gleicher Heilungsdauer, dann stellt man bei ersteren fest, daß maximal 80 % des Defektes durch neues Knochengewebe ersetzt sind, bei den bestrahlten Tieren jedoch 100 %! Hieraus den Schluß zu ziehen, daß die Knochenheilung durch Bestrahlung verbessert, bzw. stimuliert wird, ist jedoch einseitig. Vielmehr verfügt der lebende Knochen über ein kontinuierlich arbeitendes Umbausystem,

das den neugebildeten Knochen strukturell verändert und insbesondere den Einbau besser ausgerichteter Fasern ermöglicht. Dieses sogenannte "Remodelling" spielt in der Frakturheilung eine wichtige Rolle, denn es sorgt für die Stabilität des neugebildeten Gewebes, indem es die Faserausrichtung des Knochens den gegebenen mechanischen Belastungsverhältnissen anpaßt. Die Aufgabe des Abbaus bei der Ummodellierung übernehmen die Osteoklasten, die sich im Gegensatz zu den verwandten Phagozyten auf lebendes Gewebe spezialisiert haben.

Es ist durchaus vorstellbar, daß die Strahlenempfindlichkeit des Osteoklastensystems der gleichen Gesetzmäßigkeit unterliegt, wie dies für die Osteoblasten und ihre Vorläufer der Fall ist, daß aber die Neubildung von Osteoklasten einem anderen Zeitablauf unterliegt. Bei 7 Tage postoperativ mit Dosen von über 25 Gy bestrahlten Tieren wächst das Bohrloch vollständig knöchern zu. Nach einem Intervall von 14 Tagen kann in den marknahen Gebieten ein Umbau des Knochens beobachtet werden und das zugewachsene Volumen ist 5-10% kleiner. Da der Unterschied zwischen Operation und Bestrahlung nach 7 Tagen größer ist als nach 14 Tagen, nehmen wir an, daß zwischen 1 Tag und 14 Tagen die Osteoklasten gebildet werden; diese Osteoklastenbildung wird durch Dosen von über 25 Gy gehemmt, so daß bei Bestrahlung 7 Tage nach Operation weniger Remodelling erfolgt als bei Bestrahlung 14 Tage nach Operation, wenn die Osteoklasten bereits gebildet sind.

4.4. Präoperative Einzeitbestrahlung mit verschiedenen Strahlenarten

4.4.1. Zusammenfassung der eigenen Resultate

Die anhand der Probit-Analyse erstellten Dosis-Effekt-Kurven verlaufen für alle drei Partikelbestrahlungen steiler als für die Vergleichskurve mit 320 kV Röntgenstrahlen (Abb. 3.3.2.). Die errechnete relative biologische Wertigkeit für die in Garching bestrahlten Tiere liegt bei 1,40 (1,21-1,58), wenn man die Effekte miteinander vergleicht, bei denen jeweils 50% des Bohrloches 7 Wochen nach der Operation mit neugebildetem Knochen gefüllt ist. Dieser Wert liegt für die 14 MeV Neutronen bei 1,01 (0,87-1,13) und für die Pi-Mesonen bei 0,89 (0,76-1,03).

Die im Vergleich zu den höheren Dosisgruppen etwas niedrig ausfallenden Verschlußwerte für die mit 14 MeV Neutronen in Heidelberg bestrahlten Tiere bei 7,5 Gy und 8,2 Gy scheinen zunächst einer stetigen Dosiswirkung für die Hemmung der Knochenheilung zu widersprechen. Man kann sie jedoch teilweise durch die bereits vorhin angesprochene Osteoklastentätigkeit begründen. Bei 8,9 Gy ist dieser Effekt weder bei den 14 MeV Neutronen noch bei den 2 MeV Reaktorkonversionsneutronen feststellbar.

4.4.2. Besprechung der Resultate

Gleiche Energiedosen verschiedener ionisierender Strahlen bewirken nicht immer gleiche biologische Effekte. Der Wirkungsunterschied verschiedener Strahlenarten beruht auf einer unterschiedlichen mikroskopischen Energiedeposition, ausgedrückt durch den linearen Energie Transfer (LET) im Gewebe (Hug und Trott, 1980), und wird durch die relative biologische Wirksamkeit (RBW) gekennzeichnet. Laut Definition ist die RBW einer Teststrahlung der Quotient D_{250}/D_r , wobei D_{250} die Dosis der 250 kV Röntgenstrahlung darstellt, die den gleichen biologischen Effekt erzielt wie die Dosis (D_r) der Vergleichsstrahlung (Hall, 1978).

Die relative biologische Wirksamkeit eines Strahles variiert sowohl im Hinblick auf die Wahl des bestrahlten Gewebes als auch in Abhängigkeit vom gewählten Effektniveau, was aus den Ergebnissen von Broerse et al. (1971) für 15 MeV Neutronen deutlich hervorgeht. Die von ihnen gefundenen RBW-Werte lagen bei 1,0-1,1 (A) für das hämopoietische Gewebe der Maus, bei 1,4 (A) für den Gastro-Intestinaltrakt der Maus und bei 1,45 (A) für die Haut der Ratte. Field (1969,b) untersuchte die Wirkung der 8 MeV Neutronen des Hammersmith Zyklotrons in London an der Haut der Ratte und fand RBW-Werte von 1,7 (B) für die frühe bzw. 1,6 (B) für die späte Hautreaktion. Hopewell et al. (1982) führte verschiedene Untersuchungen am Schwein mit 42 MeV Neutronen durch. Die erzielten RBW-Werte lagen bei 1,2 (C) für eine frühe Hautreaktion, 1,5 (C) für die späte, 1,7 für den Verlust der Nierenfunktion, 1,2 (C) für Spätschäden an der Lunge und 1,4 (C) für den akuten Strahlenschaden am Rektum. Van der Kogel et al. (1982) untersuchten am Rückenmark der Ratte die Wirkung von 15 MeV Neutronen, wobei die Berechnung der RBW des Strahls Werte zwischen 1,2 (D) und 1,6 ergab. Breiter et al. (1986) fanden für die Spätschäden am Rektum der Ratte eine RBW von 1,8 (E) für die 2 MeV Neutronen des RENT I Strahls in

Garching. Am gleichen Strahl lag die RBW im Dünndarmkrypten-Assay bei 2,6 (F) (Kummermehr et al., 1982,b) und bei 1,6 (F) für den gleichen Versuch mit 14 MeV Neutronen in Heidelberg (KARIN). Bei all diesen Daten, die in Tab. 4.4.1. wiedergegeben sind, handelt es sich um Einzeitbestrahlungen an Normalgeweben mit Neutronen.

Die meisten experimentellen Arbeiten über die Strahlenwirkung der Pi-Mesonen auf Normalgewebe wurden in Los Alamos (LAMPF) und in Vancouver (TRIUMF) durchgeführt. Raju et al. (1980) bestrahlten in Los Alamos die Haut der Maus mit Pi-Mesonen und fand dabei einen RBW-Wert von 1,1 (G) für die Einzeitbestrahlung und 1,45 für fünf Fraktionen. Peters et al. arbeiteten am gleichen Strahl und führten Experimente am Jejunum der Maus durch. Die von ihnen gefundene RBW beträgt 1,2 (H) im Vergleich zu ^{60}Co Gamma-Strahlen. Auch van der Kogel (1987) fand für seine Versuche an der Mäuselage sehr niedrige RBW-Werte (0,9-1,0) (I), begründete diese aber mit der sehr niedrigen Dosisleistung des verwendeten Strahls (0,25 Gy/min). Die Ergebnisse seiner fraktionierten Bestrahlung an Rektum und Rückenmark der Ratte zeigten RBW-Werte von 1,5 bzw. 1,15 für die Experimente mit fünf Fraktionen. Vergleicht man diese Werte mit den Ergebnissen von Raju, dann dürften die RBW-Werte für eine Einzelbestrahlung bei ca. 1,2 (Rektum) (I) und 0,9 (Rückenmark) (I) liegen. Die Resultate aus Vancouver weichen nicht wesentlich von den vorherigen Ergebnissen ab, wie z.B. Chaplin et al. (1987) mit ihren Versuchen an der Mäusehaut zeigten (RBW = 1,05) (J). Die Schweinehautversuche von Douglas et al. (1986) wurden nur fraktioniert vorgenommen und der RBW-Wert lag bei 1,4 für die späte und 1,5 für die frühe Hautreaktion, was auf Werte von 1,1 (K) bzw. 1,2 (K) für die Einzelbestrahlung hinauslaufen würde.

Aus den Ergebnissen der Knochenheilungsversuche bei der Ratte geht hervor, daß mit der Wahl des Effektbereiches sich die RBW

des untersuchten Strahls ändert (Tab. 3.3.5.). So steigt z.B. die RBW für die 2 MeV Neutronen von 1,24 für einen Effektniveau von 10% auf 1,55 bei einem Effektniveau von 90%. Die Werte für den 50%-Effekt liegen bei 1,4 (2 MeV Neutronen) (L), 1,0 (14 MeV Neutronen) (L) und 0,9 (Pi-Mesonen) (L) und sind in der nachfolgenden Tabelle wiedergegeben.

Tab. 4.4.1.: RBW-Werte für Einzeitbestrahlung mit Neutronen und Pi-Mesonen für verschiedene Normalgewebseffekte

Zielgewebe	Neutronen				Pi-Mes.
	2 MeV	8 MeV	14 MeV	42 MeV	
Knochenmark:			1,0 (A)		
GI-Trakt:					
- Rektum:	1,8 (E)		1,4 (A)	1,4 (C)	1,2 (+) (H)
- Dünndarm:	2,6 (F)		1,6 (F)		1,2 (I)
Haut:					
- Spätreaktion:		1,6 (B)		1,5 (C)	1,1 (G)
- Frühreaktion:		1,7 (B)	1,4 (A)	1,2 (C)	1,0 (J,K)
					1,2 (+) (K)
Rückenmark:			1,2 (D)		0,9 (+) (I)
Lunge:				1,2 (C)	0,9 (I)
Knochenheilung:	1,4 (L)		1,0 (L)		0,9 (*) (L)

Die in Klammern gesetzten Buchstaben beziehen sich auf den vorhergehenden Text.

(+) Umgerechnete Ergebnisse aus fraktionierten Bestrahlungen (4-5 Fraktionen).

(*) Der Pi-Mesonen-Strahl in Villigen (CH) hat eine höhere Dosisleistung (1 Gy/min) als der Strahl in Los Alamos oder Vancouver (0,25 Gy/min).

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß die RBW von Neutronen mit zunehmender Energie abnimmt und die RBW der Pi-Mesonen meist noch niedriger liegt als die der 42 MeV Neutronen. Die höchsten RBW-Werte weisen die Gewebe des Magen-Darm-Traktes auf, gefolgt von der Haut und schließlich der Lunge. Die Werte für die Kno-

chenheilung liegen für die drei untersuchten Strahlenarten sehr niedrig, sogar noch unter den Werten der Lunge. Aber auch die RBW-Werte für das hämopoietische System der Maus und für das Rückenmark liegen sehr niedrig.

Eine mögliche Erklärung für die niedrigen RBW-Werte der Knochenheilung könnte in der mikroskopischen Dosisverteilung im Knochen liegen. Beim Eintritt ionisierender Strahlen in das Gewebe entstehen Wechselwirkungen, die zur Schwächung des Strahles, gleichzeitig aber auch zur Generierung von Sekundärstrahlung führen. Die Absorption von 320 kV Röntgenstrahlen in der Materie verläuft vor allem über den Photoeffekt (Photoelektrischen Effekt) und über den Comptoneffekt. Bei Röntgenstrahlen niedriger Energie (<100 kV) kommt es über den Photoeffekt zu einer größeren Absorption des Strahls im Knochen als im Wasser, da der Schwächungskoeffizient der durchstrahlten Materie proportional zur 4. Potenz der Kernladungszahl ist. Bei härterer Strahlung spielt vor allem der Comptoneffekt eine Rolle, wobei eine Comptonstreustrahlung entstehen kann (Lissner und Hug, 1979; Tempel, 1983). Dadurch kommt es zu einer sogenannten "Aufweichung der Strahlung", was wiederum zu einer erhöhten Strahlenabsorption des Knochens führt. Diese Effekte wurden bei den Dosisangaben nicht berücksichtigt, da man von einer Weichteilgewebsäquivalenz ausging. Folglich ist es durchaus denkbar, daß die Dosis im Knochen bei der Röntgenbestrahlung höher liegt als die angegebene. Da also der Zähler der RBW-Gleichung um 0-40% unterschätzt ist, steigt der Quotient an. Die RBW-Werte der Neutronen und Pi-Mesonen wären demnach zu niedrig angesetzt.

Andererseits beruht die Dosimetrie für die Neutronenquellen und den Pionenstrahl ebenfalls auf der Hypothese, daß die Dosis im Knochen der von Weichteilgeweben entspricht (vgl. 2.4.3.3). Die genauen Vorgänge der mikroskopischen Dosisverteilung im Knochen und vor allem an dessen Grenzflächen lassen sich jedoch nicht exakt nachvollziehen. Es ist aber durchaus vorstellbar, daß die

Dosis in den kritischen Zellen und Geweben (Periost, Endost, paraossales Mesenchym und Osteoblasten der Harvers'schen Kanäle) niedriger liegt als angegeben.

Die RBW-Werte für die Pionenexperimente liegen insgesamt sehr niedrig, aber die meisten Ergebnisse bedürfen einer Korrektur: Im Gegensatz zu den Pionenstrahlen in Vancouver und Los Alamos, die aus einem einzigen Strahl mit "Peak-" und "Plateaubereich" bestehen, wird der "Spot" am SIN in Villigen aus 60 zirkulär ausgerichteten Pionenstrahlen zusammengesetzt. Dadurch erreicht man eine höhere Dosisleistung (1 Gy/min im Gegensatz zu 25 cGy/min) und die Dosisverteilung wird symmetrischer. Eine niedrige Dosisleistung bedeutet aber auch eine niedrigere RBW für den Strahl, wie aus der Arbeit von Huczkowski und Trott (1984) hervorgeht, und die Ergebnisse aus Los Alamos und Vancouver müßten um 10-20% höher angesetzt werden (van der Kogel, 1987).

4.5. Fraktionierte Röntgenbestrahlung mit unvollständiger Erholung

4.5.1. Zusammenfassung der eigenen Resultate

Die Ergebnisse der vierfach fraktionierten Bestrahlung mit Intervallen zwischen 1 und 12 Stunden zeigen eindeutig, daß während der Bestrahlungspause Dosis vom Gewebe erholt werden kann. Ist das Intervall groß, dann benötigt man fast 65% mehr Dosis als bei der Einzeitbestrahlung, bei einem Intervall von einer Stunde zwischen den einzelnen Fraktionen genügen 23% mehr, um den gleichen Effekt zu erzielen.

Sowohl die Ergebnisse des 1-Stunden-Intervalls als auch die des 12-Stunden-Intervalls liefern praktisch vollständige Dosisef-

effekturven. Die 2- und 4-Stunden-Intervalle sind hingegen überdosiert. Während aber bei der 2-Stunden-Kurve der Verlauf der niedrigen Effektleveles noch annäherend extrapolierbar ist, ist dies bei der 4-Stunden-Kurve wegen des paradoxen niedrigsten Dosispunktes nicht möglich. Die niedrigste Dosisgruppe zeigt nämlich einen stärkeren Effekt als die nächst höhere. Für die Probit-Analyse wurde diese Dosisgruppe daher nicht berücksichtigt und statt dessen die unterste Dosisgruppe aus dem 1-Stunden-Intervall (18 Gy) übernommen, da sie für das 2-Stunden-Intervall nicht höher liegen sollte. Aus der gleichen Überlegung heraus wurde dieser Dosispunkt auch für das vier Stunden Intervall übernommen. Der ergänzte Dosiswert dürfte jeweils eine Unterschätzung der tatsächlichen Dosis darstellen. Dies bedingt die relativ flachen Dosiseffekturven für das 2- und 4-Stunden-Intervall und die entsprechend großen Konfidenzbereiche. Aus den ED50 Daten kann jedoch nunmehr die Halbwertszeit der Erholung berechnet werden.

4.5.2. Besprechung der Resultate

Die Kinetik der Erholung subletaler Strahlenschäden ist bei täglich mehrmaliger Bestrahlung der Patienten (z. B. Hyperfraktionierung) von großem Interesse. Aber bisher sind nur wenige Ergebnisse zu diesem Thema veröffentlicht worden. Vor allem die Kenntnis der Halbwertszeit der Erholung von Normalgeweben ist im Hinblick auf die Wahl der Fraktionierungsintervalle wichtig. Wenn nämlich die Erholung des gesunden umliegenden Gewebes langsamer verläuft als beim Tumor, dann ist die erwünschte maximale Schädigung des Tumors unter größtmöglicher Schonung des Normalgewebes nicht mehr gegeben. Für den AT17-Tumor der Maus fanden Guttenberger et al. (1986) eine Halbwertszeit, die -je

nach Bestrahlungsanordnung und unter Voraussetzung einer mono-exponentiellen Erholungskinetik- zwischen 30 und 60 Minuten lag. Ang et al. (1984) fanden dagegen für ihre Versuche am Rückenmark der Ratte, ebenfalls unter Berücksichtigung einer exponentiellen Beziehung zwischen der Erholung und der Zeit, eine Halbwertszeit von 85-110 Minuten.

Zur Berechnung der Halbwertszeit der Erholung kamen zwei verschiedene Methoden zum Einsatz. Zunächst übernahm man dieselbe Methode, die im Kapitel 4.5.1. zur Berechnung der Dosen pro Fraktion herangezogen wurde. Diese Methode beruft sich auf das linear-quadratische Modell, das die Überlebensrate der Zellen in zweifacher Abhängigkeit zur Dosis setzt. Zum einen ist der lineare Dosisterm (αD) ein Parameter für den nicht erholbaren Strahlenschaden, zum anderen steht der quadratische Ausdruck (βD^2) für den reparablen Schaden. Das Modell geht davon aus, daß nach jeder verabreichten Fraktion die Heilung von vorn beginnt, daß also das Erholungssystem keinen Restschaden aus der vorherigen Bestrahlung zu verarbeiten hat, bzw. die subletalen Schäden aus noch weiter zurückliegenden Fraktionen vollständig gelöscht sind.

Betrachtet man die Erholung nach 12 Stunden als vollständig, dann ist die maximal erholbare Dosis für 4 Fraktionen $D_{12} - D_0$, wobei D_0 die ED50 der Einzeitbestrahlung ist und D_{12} ist die analoge Dosis des 12-Stunden-Intervalls. Wenn n die Anzahl der Fraktionen bezeichnet, dann ist $(D_{12} - D_0)/(n-1)$ die erholte Dosis zwischen zwei Fraktionen. Für die 4 Intervallbereiche liegen die absolut und prozentual erholten Dosen folgendermaßen:

1-Stunde- Intervall:	1,23 Gy	36%
2-Stunden- Intervall:	1,35 Gy	39%
4-Stunden- Intervall:	2,42 Gy	70%
12-Stunden- Intervall:	3,46 Gy	100%

Über folgende Formel kann man die Halbwertszeit berechnen:

$$d_e = (1 - 1/(2^{t/t_{0.5}})) \cdot d_{me}$$

$$2^{t/t_{0.5}} = 1/(1 - (d_e/d_{me}))$$

d_e = erholte Dosis für das Intervall t

t = Intervall zwischen zwei Fraktionen

$t_{0.5}$ = Halbwertszeit

d_{me} = maximal erholbare Dosis, dies hat Gültigkeit für Intervalle, bei denen die Halbwertszeit der Erholung um ein Vielfaches überschritten wird.

Die so berechneten Halbwertszeiten für die verschiedenen Intervalle sind:

1-Stunde- Intervall:	1 h 34 min
2-Stunden- Intervall:	2 h 48 min
4-Stunden- Intervall:	2 h 30 min

All diese Halbwertszeiten haben sehr große Standardabweichungen, und die 95%-Vertrauensbereiche reichen von einige Minuten bis zu 6 Stunden.

Das "incomplete-repair" Modell von THAMES (1985) geht ebenfalls vom linear-quadratischen System aus, es postuliert aber zusätzlich, daß bei inkompletter Erholung zwischen der ersten und zweiten Fraktion für die dritte Fraktion noch ein zusätzlicher Restschaden aus der ersten Fraktion vorliegt, der sich zum subletalen Schaden der zweiten Fraktion addiert. Für die Berechnung wird dieser kumulierende Restschaden in Form einer "erinnerten Dosis" behandelt, die wieder exponentiell mit einer konstanten Halbwertszeit abklingt.

Berechnet man die Halbwertszeit nach dem Thames'schen Programm, dann unterscheiden sich die Werte je nachdem, ob die nicht transformierten Daten oder die nach Probit transformierten Daten zugrundegelegt werden. Für die nicht transformierten

Daten findet man eine Halbwertszeit, die zwischen 1 h 54 und 3 h 50 liegt (95% Vertrauensbereich) mit einem Mittelwert von 2 h 30. Für die Probit-Analyse (Effektlevel 80% unverschlossenes Bohrvolumen) liegen die Werte der Halbwertszeit zwischen 42 min und 3 h 12 (95% Vertrauensbereich) bei einem Mittelwert von 1 h 54.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die Halbwertszeit der Knochenheilung für das vorliegende Versuchsmodell zwischen 1 1/2 und 2 1/2 Stunden liegen dürfte. Die zur Dosisberechnung tentativ eingesetzte Halbwertszeit von einer Stunde war sicher zu klein eingeschätzt; sowohl hieraus wie aus der Vernachlässigung der Kumulierung des subletalen Schadens im 2- und 4-Stunden-Intervall erklärt sich die teilweise Überdosierung des Versuchs. Um die tatsächliche Halbwertszeit aber genauer einkreisen zu können, benötigt man zusätzlich die Ergebnisse anderer Intervalle, die zwischen 1 und 4 Stunden liegen.

4.6. Ausblick

Die Ergebnisse aus der Einzeitbestrahlung mit steigendem Intervall nach der Operation belegen am Beispiel der Osteoblasten und der Osteoklasten, daß die proliferierenden Stamm- und Vorläuferzellen einer Zelllinie wesentlich strahlenempfindlicher sind als die funktionstüchtigen Endglieder der Hierarchie. Für die Strahlentherapie ist außerdem wichtig, daß die Wahl des Zeitpunktes eines operativen Eingriffes bedeutsam ist, da die mesenchymale Heilung bei einer postoperativen Bestrahlung mit einem Intervall von mindestens 4 Tagen weniger gestört wird als bei einer präoperativen Bestrahlung.

Im Hinblick auf den therapeutischen Einsatz von Neutronen- und Pi-Mesonenstrahlen in der Tumorbehandlung ist die Kenntnis der RBW-Werte dieser Strahlen für Normalgewebe von besonderem Interesse, da Normalgewebsschäden sehr häufig zum limitierenden Faktor für die Therapie werden. Die Ergebnisse zeigen, daß die RBW-Werte für die Knochenheilung im Vergleich zu anderen Normalgeweben sehr niedrig anzusetzen sind.

Die Erholungskinetik subletaler Strahlenschäden spielt bei fraktionierten Bestrahlungen mit kurzen Intervallen zwischen den Fraktionen eine besondere Rolle. Wie aus den vorliegenden Resultaten hervorgeht, ist sowohl die Wahl der tentativen Halbwertszeit der Erholung als auch der benutzte Formalismus zur Berechnung der Halbwertszeit bei der Versuchs- und Therapieplanung sehr wichtig. Der Vergleich der Halbwertszeiten der Erholung zeigt, daß im Tumor (Guttenberger et al, 1985) der subletale Strahlenschaden schneller erholt werden kann als in manchen Normalgeweben. Als Implikation für die Therapie ergibt sich hieraus, daß der Vorteil einer fraktionierten Behandlung unter Umständen durch das Verkürzen des Bestrahlungsintervalls ins Gegenteil verkehren kann.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß modifizierender Faktoren der Strahlenwirkung auf die Knochenheilung des chirurgisch traumatisierten Rattenfemurs untersucht. An einer definierten Stelle des Knochens wurde ein 1,2 mm großes Loch in die Kortikalis gebohrt und nach sieben Wochen morphometrisch ausgewertet. Als Endpunkt diente der nicht knöchern verschlossene Anteil am Gesamtvolumen des Bohrloches.

Die Ergebnisse der postoperativen Einzeitbestrahlung (320 kV Röntgenstrahlen) mit Intervallen von 6 Stunden bis 14 Tage zeigen, daß nach 6 Stunden ($ED_{50} = 21,7$ Gy) die Strahlenresistenz gegenüber der präoperativen Einzeitbestrahlung zunimmt ($ED_{50} = 16,2$ Gy). Bei einem Intervall von 24 Stunden verschiebt sich die Dosis-Effekt-Kurve nicht wesentlich gegenüber der Vorbestrahlung ($ED_{50} = 15,0$ Gy). Bei größeren Zeitintervallen nimmt die Hemmbarkeit der Knochenheilung durch Strahlen erheblich ab und nach 7 bzw. 14 Tagen vermögen selbst Dosen von über 35 Gy nicht mehr, die Heilung zu verhindern.

Zur Berechnung der RBW von Neutronen und Pi-Mesonen wurden die ED_{50} -Werte der Einzeitbestrahlung 24 Stunden vor der Operation mit dem Wert der 320 kV Röntgenstrahlen ($ED_{50} = 16,2$ Gy) verglichen. Die Bestrahlungen erfolgten mit 2 MeV Reaktorkonversionsneutronen (25% Gamma-Anteil) am Forschungsreaktor der TU-München in Garching ($ED_{50} = 11,6$), mit 14 MeV Neutronen am Ringgenerator (KARIN) des Deutschen Krebsforschungszentrums in Heidelberg ($ED_{50} = 16,1$) und mit Pi-Mesonen am Schweizer Institut für Nuklearforschung ($ED_{50} = 18,1$ Gy). Die berechneten RBW-Werte liegen bei 1,40 für die 2 MeV Neutronen, bei 1,01 für 14 MeV Neutronen und bei 0,89 für die Pi-Mesonen.

Das Studium der Erholungskinetik beim subletalen Strahlenschaden erfolgte anhand einer vierfach fraktionierten Bestrahlung

mit Intervallen zwischen 1 und 12 Stunden. Die Versuchsplanung beruhte für die Fraktionierung auf dem linear-quadratischen Modell und einem α/β -Wert von 3,6 Gy. Die Bestimmung der Erholungsgeschwindigkeit basierte auf einer tentativen Halbwertszeit von einer Stunde und einer exponentiellen Abnahme des subletalen Schadens unter der Voraussetzung, daß der Restschaden aus weiter zurückliegenden Fraktionen vollständig gelöscht wurde. Die Ergebnisse zeigen, daß die postulierte Halbwertszeit zu niedrig angesetzt war und die Vernachlässigung des Restschadens aus weiter zurückliegenden Fraktionen zu einer Überdosierung der 2- und 4-Stunden-Experimente führte. Die Berechnung der Erholungsgeschwindigkeit nach dem Formalismus von Thames für die ED80-Werte ergibt eine Halbwertszeit von 2 h 30 min (1 h 54 min - 3 h 50 min).

5. Summary

MODIFYING FACTORS OF RADIATION EFFECTS ON BONE HEALING IN THE RAT FEMUR: RADIATION QUALITY INTERVAL BETWEEN SURGERY AND IRRADIATION SUBLETHAL DAMAGE REPAIR

The influence of modifying factors of radiation on bone healing was studied in the surgically traumatized rat femur. A 1.2 mm hole was drilled in the cortical bone at a standardized site and was morphometrically evaluated seven weeks later. The proportion of the total area of the bone hole which had not been reclosed by new bone was used as an endpoint. The results of the single dose irradiation performed post-operatively using 320 kV X-rays with intervals ranging from 6 hours to 14 days showed that after 6 hours ($ED_{50} = 21.7$ Gy), the radiation resistance was increased with respect to the single dose irradiation performed pre-operatively ($ED_{50} = 16.2$ Gy). The dose effect curve for the 24 hour interval ($ED_{50} = 15.0$ Gy) was not different from that for the pre-operative irradiation. The longest time intervals demonstrated markedly reduced inhibition of bone healing following irradiation. After intervals of 7 or 14 days, even single doses of 35 Gy were ineffective in inhibiting bone healing.

The values of RBE for neutrons and pi-mesons were calculated using the ED_{50} value for the single dose irradiation with 320 kV X-rays given 24 hours before surgery as a reference value ($ED_{50} = 16.2$ Gy). Reactor conversion 2 MeV neutrons with 25% gamma ray contribution at the research reactor in Garching, a facility of the Technical University in Munich, yielded an ED_{50} of 11.6 Gy. Further experiments were done with 14 MeV neutrons from the ring generator facility at the German Cancer Research Center (DKFZ) in Heidelberg ($ED_{50} = 16.1$ Gy) and with pi-mesons

at the Swiss Institute for Nuclear Research (SIN) (ED50 = 18.1 Gy). The resulting RBE values are the following:

- 1.40 for the 2 MeV neutrons;
- 1.01 for the 14 MeV neutrons; and,
- 0.89 for the pi-mesons.

The question of repair kinetics of sublethal radiation damage was addressed using four irradiation fractions with intervals ranging from 1 to 12 hours. The experimental design for the fractionation was based on the linear-quadratic model and an α/β value of 3.6 Gy. For the determination of the rate of repair as an exponential reduction of sublethal damage, an estimated repair half-time of one hour was used and it was assumed that all damage resulting from previous fractions had been completely repaired. The results demonstrate that the assumed repair half-time value was too low. The residual damage from previous fractions which had been neglected resulted in too high doses in the 2 and 4 hour interval fractionation experiments. The calculated rate of repair using the formalism from Thames for the ED80 values yielded a repair half-time of 2.5 hours (1.9 - 3.8 h).

6. Literaturverzeichnis

ALBREKTSSON, T, M. JACOBSSON, I. TURESSON:

Irradiation Injury of Bone Tissue, a vital microscopic method.
Acta Radiologica Oncology, 19, 235-239 (1980)

ANG, K.K., A.J. VAN DER KOGEL, J. VAN DAM, E. VAN DER SCHUEREN:
The kinetics of repair of sublethal damage in the rat cervical
spinal cord during fractionated irradiations.
Radiotherapy and Oncology, 1, 247-253 (1984)

ARNOLD, M., J. KUMMERMEHR, A. BURGMEIER:

Der Einfluß einer Bestrahlung auf die Heilung von Bohrlöchern
im Rattenfemur.
Experimentelle Tumorthherapie Jahresbericht (1983)
GSF-Bericht B 1694

ARNOLD, M.:

Der Einfluß von Röntgenbestrahlung auf die Heilung von
Bohrlochdefekten im Rattenfemur.
Experimentelle Tumorthherapie Jahresbericht (1984)
GSF-Bericht 31/85

ARNOLD, M.:

A new model to investigate bone healing in mature bone after
single and fractionated X-irradiation. Vortrag und Abstract.
19th Annual Meeting of the ESB, Prag (1985)

ARNOLD, M., H. PFEIFER:

Strahleninduzierte Heilungsstörung des Rattenknochens: Einfluß
von Sequenz und Intervall zwischen Bestrahlung und Trauma.
Experimentelle Tumorthherapie Jahresbericht (1985)
GSF-Bericht B-1964

BARENDSEN, G.W.:

Radiobiology of neutrons.

International Journal of Radiation Oncology, Biology Physics,
8, 2103-2107 (1982,a)

BARENDSEN, G.W.:

Dose fractionation, dose rate and iso-effect relationships for
normal tissue responses .

International Journal of Radiation Oncology, Biology Physics,
8, 1981-1997 (1982,b)

BOURNE, G.H.:

The biochemistry and physiology of bone.

Academic Press, 2nd edition, vol. 3 (1971)

BREITER, N., P. KNESCHAUREK, G. BURGER, J. HUCZKOWSKI, K.R.

TROTT:

The r.b.e. of fast fission neutrons (2 MeV) for chronic
radiation damage of the large bowel of rats after single dose
and fractionated irradiation.

International Journal of Radiation Biology, 49, 1031-1038
(1986)

BROERSE, J.J., G.W. BARENDSEN, G. FRERIKS, L.M. VAN PUTTEN:

RBE values of 15 MeV Neutrons for effects on normal tissues.

European Journal of Cancer, 7, 171-177 (1971)

CHAPLIN, D.J., B.G. DOUGLAS, W. GURKLEY, L.D. SKARSGARD, G.

LAM, J. DENEKAMP:

The response of mouse epidermis to fractionated doses of pi-
mesons.

International Journal of Radiation Oncology, Biology Physics,
13, 1199-1208 (1987)

DALE, R.G.:

The application of the linear-quadratic dose-effect equation to fractionated and protracted radiotherapy.

British Journal of Radiology, 58, 515-528 (1985)

DOUGLAS, B.G., J.F. FOWLER:

The effect of multiple small doses of X-rays on skin-reactions in the mouse and a basic interpretation.

Radiation Research 66, 401-426 (1976)

DOUGLAS, B.G., W.R. GRULKEY, D.J. CHAPLIN, G. LAM, L.D.

SKARSGARD, J. DENEKAMP:

Pions and pig skin: preclinical evaluation of RBE for early and late damage.

International Journal of Radiation Oncology, Biology Physics, 12, 221-229 (1986)

ELKIND, M.M., H. SUTTON:

Radiation response of mammalian cells grown in culture.

Radiation Research, 13, 556-593 (1960)

ESSEN VON, C.F.:

Brief historical retrospective.

SIN medical Newsletter 1, 2 (1978)

FIELD, S.B.:

Early and late reactions in skin of rats following irradiation with X rays or fast neutrons.

Radiology, 92, 381-384 (1969,a)

FIELD, S.B.:

The relative biological effectiveness of fast neutrons for mammalian tissues.

Radiology, 93, 915-920 (1969,b)

FIELD, S.B., S. HORNSEY:

RBE values for cyclotron neutrons for effects on normal tissues and tumours as a function of dose and dose fractionation.
European Journal of Cancer, 7, 161-169 (1971)

FIELD, S.B., S. HORNSEY:

Aspects of OER and RBE relevant to neutron therapy.
In: Advances in Radiation Biology
Editors: J.T. Lett and H. Adler
Academic Press, Volume 8, 1-48 (1979)

FINNEY, D.J.:

Probit analysis.
Cambridge University Press, third edition (1971)

FOWLER, J.F.:

Review: total doses in fractionated radiotherapy- implications of new radiobiological data.
International Journal of Radiation Biology, 46, 103-120
(1984,a)

FOWLER, J.F.:

Fractionated radiation therapy after Strandqvist.
Acta Radiologica, Oncology, 23, 209-216 (1984,b)

GÖSSNER, W., A. Luz, F. Heuck:

Knochen.
In: Handbuch der Medizinischen Radiologie XX, 1, 265-316 (1984)

GRAY, L. H., A. D. CONGER, M. EBERT, S. HORNSEY:

The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy.
British Journal of Radiology, 26, 638-648 (1953)

GUTTENBERGER, R., J. KUMMERMEHR, M. NEUNER, K. SCHROPP, M.

SUND:

Kinetik der Erholung vom subletalen Strahlenschaden im
Adenokarzinom AT 17.

Experimentelle Tumorthherapie Jahresbericht (1985)

GSF-Bericht B 1964

GUTTENBERGER, R., J. KUMMERMEHR, M. NEUNER, K. SCHROPP, M.

SUND:

The kinetics of recovery from sublethal damage in adenocarcinoma
AT17 of the C3H mouse.

Experimentel tumor therapie annual report (1986)

HALL, E.J.:

The nature of the oxygen effect.

In: Radiobiology for the radiologist, 2nd edition,
Harper & Row, Philadelphia (1978)

HALNAN, K.E., S. HORNSEY:

RBE values for neutron therapy.

International Journal of Radiation Oncology, Biology Physics,
7, 601-604 (1981)

HAYASHI, S., H.D. SUIT:

Effect of fractionation of radiation dose on callus formation
at site of fracture.

Radiology, 101, 181-186 (1971)

HERRMANN, T.:

Klinische Strahlenbiologie.

Dr. D. Steinkopff Verlag, Darmstadt (1978)

HÖVER, K.H., W.J. LORENZ, H. SCHARFENBERG, W. SCHLEGEL:
Treatment planning at the Heidelberg neutron therapy facility
(with special considerations of the inhomogeneity problem).
In: treatment planning for external beam therapy with neutrons.
Editors: G. BURGER, combined with A. BREIT and J.J. BROERSE
Urban & Schwarzenberg, München, 116-122 (1981)

HOPEWELL, J.W., D.W.H. BARNES, D.T. GOODHEAD, J.F. KNOWLES, G.
WIERNIK, C.M.A. YOUNG:
The relative biological effectiveness of fast neutrons (42
MeV_{abs.}) for early and late normal tissue injury in the pig
International Journal of Radiation Oncology, Biology Physics,
8, 2077-2081 (1982)

HUCZKOWSKI, J., K.R. TROTT:
Dose fractionation effects in low dose irradiation of jejunal
crypt stem cells.
International Journal of Radiation Biology, 46, 3, 293-298
(1984)

HUG, O, K.R. TROTT:
Biologische Grundlagen der Strahlenwirkung.
In: Radiologie I., Editors: J. LISSNER, O.

HUG, O:
Medizinische Strahlenkunde
Springer Verlag, Berlin (1974)

JACOBSSON, M., A. JÖNSSON, T. ALBREKTSSON, I. TURESSON:
Dose-response for bone regeneration after single doses of ⁶⁰Co
irradiation.
International Journal of Radiation Oncology, Biology Physics,
11, 1963-1969 (1985)

KOESTER, L., A. BREIT, J. BRUCKMOSER, P. KNESCHAUREK, M. SALEHI,
F.M. WAGNER, W. WASCHKOWSKY:

Neutron converter for reactor-neutron therapy.

International Symposium on the Use and Development of Low and
Medium Flux Research Reactors

Massachusetts Institute of Technology, Cambridge Mass. USA
(1983)

KOESTER, L.:

Applicability of reactor fission neutrons for radiation therapy
of cancer.

Nuclear Science Applications, 79-96, 2 (1984)

KOGEL VAN DER, A.J., H.A. SISSINGH, J. ZOETELIEF:

Effects of X rays and neutrons on repair and regeneration in
the rat spinal cord.

International Journal of Radiation Oncology, Biology Physics,
8, 2095-2097 (1982)

KOGEL VAN DER, A.J.:

Effects of Pions on spinal cord, lung and rectum in comparison
with neutrons and X rays.

Workshop on fast Neutron Radiotherapy, GSF-Munich (1987)

KOLAR, J., R. VRABEC:

Strahlenbedingte Knochenschäden.

In: Handbuch der Medizinischen Radiologie XX, 1, 400-462 (1984)

KUMMERMEHR, J., H. PFEIFER, G. HAUGG, D. SCHLEGEL, H. V.
LIEVEN:

Strahleneinfluß auf die Knochendefektheilung beim Beagle.

Experimentelle Tumorthherapie Jahresbericht (1982,a)

GSF-Bericht B 1521

KUMMERMEHR, J, K. SCHROPP, H. PFEIFER, M. SCHRAUBE, K.H. HÖVER,
J. WOLWER, G. RIES:

RBW und Fraktionierungseffekt für verschiedene Neutronenquellen
im Dünndarm-Kryptenassay der Maus.

Experimentelle Tumorthherapie Jahresbericht (1982,b)

GSF-Bericht B 1521

KUMMERMEHR, J.:

Mikroradiographische Untersuchungen über den Einbau und die
Retention von Calcium-45 im Kniegelenk der Ratte nach lokaler
Röntgenbestrahlung.

Dissertation, Medizinische Fakultät, Ludwig-Maximilians-
Universität München (1971)

LISSNER, J., O. HUG:

Radiologie I.

Enke Verlag (1979)

PETERS, L.J., H.R. WITHERS, K.A. MASON, J.F. DICELLO:

Effect of fractionated doses of Pions on normal tissues: part 2
mouse jejunum.

International Journal of Radiation Oncology, Biology Physics,
6, 1667-1669 (1980)

POTTEN, C.S., J.H. HENDRY, J.V. MOORE, S. CHWALINSKI:

Cytotoxic effects in gastro-intestinal epithelium (as
exemplified by small intestine).

In: Cytotoxic insult to tissue.

Editors: C.S. POTTEN, J.H. HENDRY, Churchill Livingstone, 105-
152 (1983)

RAJU, M.R., S. CARPENTER, N. TOKITA, J.F. DICELLO, D. JACKSON,
E. FRÖHLICK, C. VON ESSEN:

Effect of fractionated doses of Pions on normal tissues: part 1
mouse skin.

International Journal of Radiation Oncology, Biology Physics,
6, 1663-1666 (1980)

REVELL, P.A.:

Necrosis and healing in bone

In: Pathology of Bone

Springer Verlag, Berlin (1986)

SALZMANN, M.:

First dosimetric measurements at the Piotron.

SIN Medical Newsletter, 3, 5-10, (1981)

SALZMANN, M.:

Measurements at the nE3 Single Beam Correlated to Dosimetry and
Therapy Planning.

SIN Medical Newsletter, 2, 7-12, (1979)

SANDERSLEBEN, J. VON, K. DÄMMRICH, E. DAHME:

Pathologische Histologie der Haustiere.

Fischer Verlag, Stuttgart, 2.Aufl. (1985)

SCHEBITZ, H., W. BRASS:

Allgemeine Chirurgie für Tierärzte und Studierende.

Paul Parey Verlag, Berlin (1975)

TEMPEL, K.:

Radiologie für Veterinärmediziner.

Enke Verlag, Stuttgart (1983)

STONE, R.S.:

Neutron therapy and specific ionisation

American Journal of Roentgenology and Radiation Therapy, 59,
771-785 (1948)

THAMES, H.D.:

An "incomplete-repair" model for the survival after
fractionated and continuous irradiations.

International Journal of Radiation Biology, 47, 319-339 (1985)

THOMLINSON, R.H., L.H. GRAY :

The histological structure of some human lung cancers and the
possible implications for radiotherapy

Britisch Journal of Cancer, IX, 539-576 (1955)

WAGNER, F.M., P. KNESCHAUREK, L. KOESTER:

The reactor neutron therapy facility at the Munich research
reactor FRM. (unveröffentlicht).

WITHERS, H.R.:

The 4 R's of radiotherapy.

In: Advances in Radiation Biology

Editors: J.T. Lett and H. Adler

Academic Press, New York, 5, 241-270 (1975)

YUHAS, J.M., A.P. LI, M.M. KLIGERMAN:

Present status of the proposed use of negative Pi-mesons in
radiotherapy.

In: Advances in Radiation Biology

Editors: J.T. Lett and H. Adler

Academic Press, New York, 8, 51-85 (1979)

Mein Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. K. Tempel für die Überlassung des Themas und für seine Hilfe bei der Fertigstellung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. U. Hagen und Herrn Prof. Dr. K.-R. Trott für ihre Unterstützung der Arbeit.

Herrn Dr. J. Kummermehr, Herrn M. Arnold, Frau B. Geist und Herrn Dr. R. Guttenberger für die wissenschaftliche Unterstützung der Experimente.

Herrn W. Felkner, Frau M. Schury und den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Experimentelle Strahlentherapie für die Hilfe bei der Ausführung der Versuche.

Herrn F.M. Wagner (FRM), Herrn Dr. K. Höver (DKFZ) und Herrn Dr. H. Blattmann (SIN) für ihre Gastfreundschaft und Hilfe bei der Arbeit an den jeweiligen Instituten.

Herrn Dr. M. Sund vom Institut für Medizinische Datenverarbeitung und Systemforschung in Neuherberg und seinen Mitarbeitern für ihre Anleitungen bei der statistischen Auswertung der Resultate.

der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, dem Deutschen Institut für Krebsforschung in Heidelberg, der Technischen Universität München und dem Schweizer Institut für Nuklearforschung in Villigen/Aargau für die Nutzung ihrer Einrichtungen.

LEBENS LAUF

Name: Paul Stas

Geburtsort
und -datum: 21.12.59 in Mortsel (B)

Familienstand: verheiratet mit Daniela Stas,
geb. Wolz, 1 Kind

Staatsangehörigkeit: belgisch

Wohnort: Cramer-Klett-Str. 20
8014 Neubiberg
Tel: 089/6016256

Schulausbildung: 1965-1971: Volksschule
Büllingen (B)
1971-1977 Bischöfliche Schule
in St.Vith

Studium: 1978-1981 2 Semester Medizin
und anschließend Veterinär-
medizin an der faculté
Notre-Dame de la Paix in
Namur (B)
1981-1986 Studium der
Tiermedizin an der Ludwig-
Maximilians-Universität
in München.

